

ANNÉE 1969

N°

THÈSE

451

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Mme SCHIRAR-PADRAZZI Michèle
ancienne externe des Hôpitaux de Paris
née le 7 Août 1941 à Bône (Algérie)

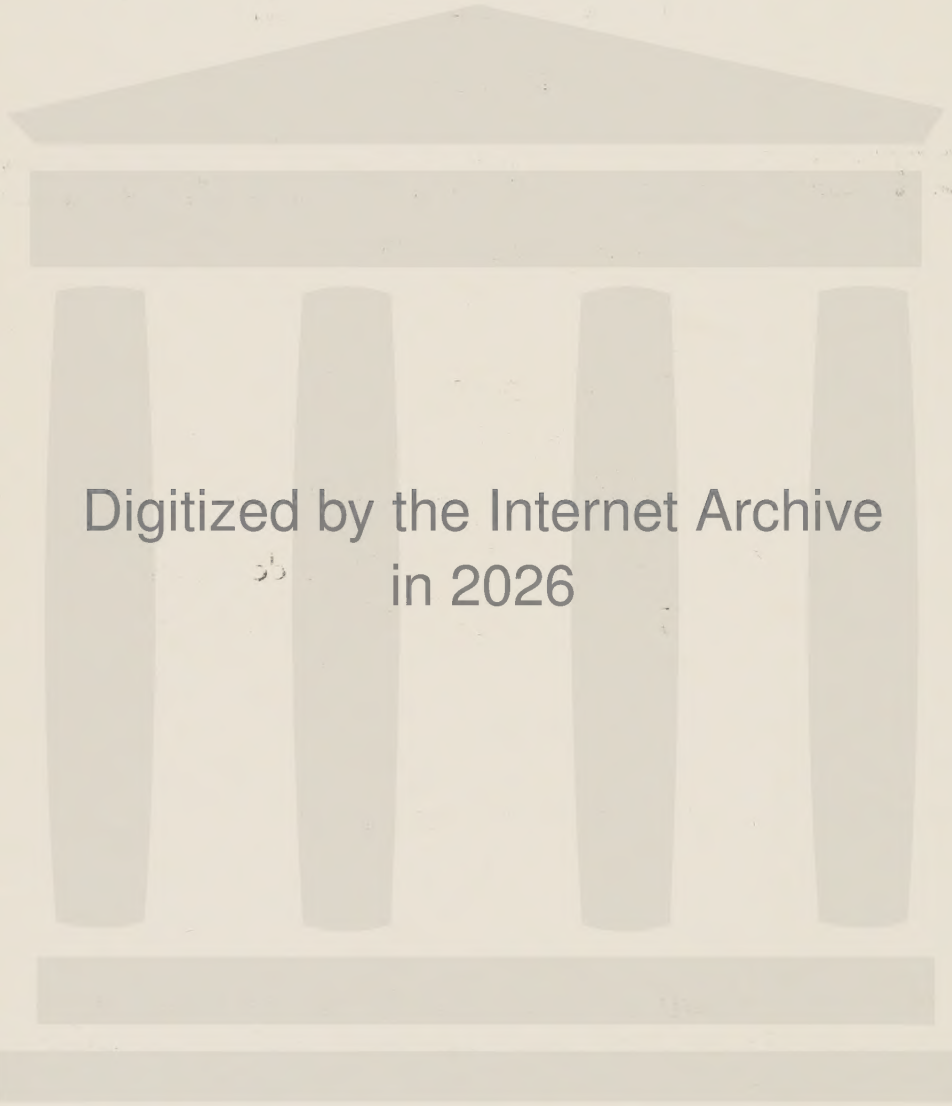
PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

1969

MESURE DE LA BILIRUBINE NON CONJUGUÉE ET NON LIÉE A L'ALBUMINE
PAR FILTRATION SUR COLONNE DE GEL SEPHADEX.

PREMIERS RÉSULTATS AU COURS DES HYPERBILIRUBINEMIES NÉO-NATALES.

Président: M. A. MONSAINGEON, Professeur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552201_0022

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE
(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Mme SCHIRAR-PADRAZZI Michèle
ancienne externe des Hôpitaux de Paris
née le 7 Août 1941 à Bône (Algérie)



PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

1969

MESURE DE LA BILIRUBINE NON CONJUGUÉE ET NON LIÉE A L'ALBUMINE
PAR FILTRATION SUR COLONNE DE GEL SEPHADEX.
PREMIERS RÉSULTATS AU COURS DES HYPERBILIRUBINEMIES NÉO-NATALES.

Président : M. A. MONSAINGEON, Professeur

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Mme SCHIRAN-PADRAZI Michèle

Andréine épouse des Hôpitaux de Paris

née le 7 Août 1901 à Bone (Algérie)



1902

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE

MESURE DE LA BOUTONNIÈRE NON ÉCARTÉE ET NON LIGÉE À L'ALBUMINE
PAR INJECTION SUR COLONNE DE GEL DE SERRAVALLE
MÉTHODES RÉGULAIRES AU COURS DES HYPERNÉPHROSES RÉNOVASCULAIRES

Présentée par M. A. MONSIEUX, Professeur

1er/3/1968

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ALAJOUANINE (T.), BENARD (H.), BERNARD (E.), BINET (L.), BULLIARD (H.), CATHALA (J.), CHABROL (E.), CHAILLEY-BERT (P.), CHEYMOL (J.), COSTE (F.), DEBRE (R.), DECHAUME (M.), GALLIARD (H.), GAUDARD d'ALLAINES (F. de), GENNES (L. de), GIROUD (A.), HAZARD (R.), HEUYER (G.), LACOMME (M.), LAMY (M.), LAROCHE (G.), LELONG (M.), LEVY (Mlle J.), LEVY-SOLAL (E.), LIAN (C.), MADURO (R.), MARCHAL (G.), MATHIEU (P.), MONOD (R.), MOREAU (R.), MOULONGUET (P.), PASTEUR VALLERY-RADOT, PETIT-DUTAILLIS (D.), PIEDELIEVRE (R.), QUENU (J.), RENARD (G.), SENEQUE (J.), STROHL (A.), TANON (L.), TURPIN (R.), VERNE (J.).

DOYEN Georges BROUET

1er ASSESSEUR Daniel BARGETON

2e ASSESSEUR Jean GOSSET

A. - CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

Anatomie	MM.
-	DELMAS (A.)
-	HUARD (P.)
à titre personnel	CABROL (Ch.)
-	OLIVIER (G.)
Anatomie et Cytologie pathologiques .	DELARUE (J.)
à titre personnel	NEZELOF (Ch.)
-	ORCEL (L.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
-	DESGREZ (P.)
-	POLONOVSKI (J.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
à titre personnel	CARTIER (P.)
-	DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale (à titre personnel).	BOURLIERE (F.)
-	HARTMANN (L.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
-	DJOURNO (A.)
-	DOGNON (A.)
à titre personnel	KELLERSHOHN (L.)
-	GOUGEROT (L.)
-	ROUCAYROL (J.-Cl.)

.../...

Cancérologie expérimentale	MM. MATHE (G.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histologie et Embryologie	GOUJARD (R.)
- - -	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
à titre personnel	RACADOT (J.)
Microbiologie	FASQUELLE (P.)
Bactériologie et Virologie	TOURNIER (P.)
à titre personnel	BARBIER (P.)
Parasitologie	LARIVIERE (M.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
à titre personnel	LOEPER (J.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.-R.)
-	LECHAT (P.)
Physiologie	BARGETON (D.)
-	MAI MEJAC (J.)
-	PARROT (J.)
à titre personnel	DEJOURS (P.)
Physiologie et biologie appliquée ..	SCHERRER (J.)
aux sports	

B. - CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

1° - MEDECINE

Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Histoire de la Médecine et de la Chirurgie	COURY (Ch.)
Hygiène et Médecine Préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale, droit médical et Déontologie	DEROBEPT (L.)
Pathologie exotique	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie médicale	BUGE (A.)
- - -	BRICAIRE (H.)
- - -	CORNET (A.)
- - -	HOUSSET (E.)
- - -	LAROCHE (Cl.)
à titre personnel	AZERAD (E.)
- - -	BOUR (H.)
- - -	BROCARD (H.)
- - -	CAROLI (J.)
- - -	FACQUET (J.)
- - -	LAMBLING (A.)
- - -	LAUNAY (Cl.)

.../...

Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANCON (L.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique et sémiologie médicales (Antoine-Chantin)	DOMART (A.)
Sémiologie médicale (Lariboisière) ..	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Clinique d'hydrologie et de Climatologie (Bichat)	BEBRAY (Ch.)
à titre personnel	GIBERTON (A.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies métaboliques (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique néphrologique (Necker)	HAMBURGER (J.)
à titre personnel	RICHEL (G.)
— —	CROSNIER (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)	ROYER (P.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)	MOZZICONACCI (P.)
Clinique médicale infantile et de pédiatrie sociale (Enfants-Malades) ..	MARIE (J.)
Clinique de pédiatrie (Trousseau)	BRISSAUD (H.)
à titre personnel	LESOBRE (R.)
Clinique de pédiatrie et de puéricul- ture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Hygiène et Clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
à titre personnel	POLONOVSKI (Cl.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BROUET (G.)
à titre personnel	KREIS (B.)
— —	MEYER (A.)
Clinique de rééducation motrice	GROSSIORD (A.)
Electroradiologie	LEDoux-LEBARD (M.)
—	LETEBVRE (J.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
à titre personnel	FISCHGOLD (H.)
— —	TUBIANA (M.)
— —	CHEBIGIE (E.)
	.../...

		MM.
-	-	PAYET (M.)
-	-	PERRAULT (M.)
-	-	SIGUIER (F.)
-	-	WORMS (R.)
-	-	WORMS (R.)
-	-	BOUVIER (J.)
Pathologie respiratoire		TURIAF (J.)
Pathologie et Thérapeutique générales	.	MAURICE (P.)
Thérapeutique		LANOTTE (M.)
Thérapeutique appliquée		MARCHE (J.)

Chaires de Cliniques :

Clinique cardiologique (Boucicaut)	...	LENEGRE (J.)
- (Broussais)	...	SOULIE (P.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)	.	DUPERRAT (F.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
à titre personnel		BASTIN (R.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
à titre personnel (neuro-psychiatrie)		PICHOT (P.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	..	GARCIN (R.)
à titre personnel		LHERMITTE (F.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
à titre personnel (nématologie)		ANDRE (R.)
-	-	BOUSSER (J.)
-	-	DREYFUS (B.)
(Bicêtre		DEPARIS (M.)
(Broussais		MILLIEZ (P.)
(Cochin		PEQUIGNOT (H.)
Cliniques médicales (Hôtel-Dieu		BARIETY (M.)
(Pitié		DREYFUS (G.)
(Saint-Antoine		BOUDIN (G.)
(-		COMTE (M.)
(-		KOURILSKY (R.)

.../...

Clinique de rhumatologie médicale
et sociale (Cochin) DELBARRE (F.)

Clinique rhumatologique (Lariboisière) SEZE (S. de)

Clinique toxicologique (Fernand-Widal) GAULTIER (M.)

2° CHIRURGIE

Anesthésiologie VOURC'H (G.)

Pathologie chirurgicale LAURENCE (G.)

— — KUSS (R.)

— — N...

à titre personnel RAMADIER (J.)

Physiologie et pathologie obstétricales MORIN (P.)

Technique chirurgicale et chirurgie
expérimentale MONSAINGEON (A.)

Chaires de Cliniques :

Clinique carcinologique (Gustave Roussy) DENOIX (P.)

Clinique carcinologique chirurgicale

(Necker) REDON (H.)

à titre personnel BREHANT (J.)

(Beaujon

LORTAT-JACOB (J.L.)

(—

BAUMANN (J.)

(Cochin

LEGER (L.)

Cliniques chirurgicales (Hôtel-Dieu .

PATEL (J.)

(Saint-Antoine

GOSSET (J.)

(Salpêtrière .

SICARD (A.)

(Tenon

OLIVIER (Cl.)

Clinique thérapeutique chirurgicale

(Vaugirard) ROUX (M.)

Séméiologie et clinique chirurgicales

(Broussais) POILLIUX (F.)

(Saint-Louis) DEBEYRE (J.)

Clinique chirurgicale orthopédique et

traumatologique (Cochin) MERLE d'AUBIGNE (R.)

— — (Foch) PADOVANI (P.)

— — (Beaujon) CAUCHOIX (J.)

Clinique traumatologique et orthopédique

(Raymond-Poincaré) JUDET (R.)

Clinique de chirurgie infantile et

orthopédique (Enfants-Malades) ... FEVRE (M.)

à titre personnel CHIGOT (P.-L.)

.../...

Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)	MM. DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie thoracique (Laennec)	MATHEY (J.)
à titre personnel	GAUDART D'ALLAINES (Cl. de)
Clinique chirurgicale et gynécologique (Port Royal)	HUGUIER (J.)
Clinique obstétricale (Baudeloque) ..	LEPAGE (F.)
- - (Saint Antoine) .	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié) ..	BREGÉAT (P.)
- - (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique stomachique (Salpêtrière) ...	CERNEA (P.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
- - (Necker)	COUVELAIRE (R.)

C. - PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie	GILLOT (Cl.)
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Bactériologie	LE MINOR (L.)
Biochimie médicale	(CARTIER (P.)
	(GONNARD (P.)
	(NORDMANN (J.)
Chirurgie	CERBONNET (G.)
Hématologie	(BESSIS (M.)
	(BILSKI-PASQUIER (G.)
Hygiène	(BLANCHER (G.)
	(CORRE-HURST (Mme L.)
Médecine légale	(CECCAL (P.)
	(HADENGUE (A.)
	(FOURNIER (E.)
Médecine générale	AUSSANNAIRE (M.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G.)
Pédiatrie	ROSSIER (A.)

		MM.
Physique médicale	(	COURSAGET (J.)
	(	GREMY (F.)
	(	PELLERIN (P.)
Physiologie	(	DURAND (J.)
	(	GIRARD (Fr.)
	(	HUGELIN (A.)
Stomatologie		CHAPUT (Mme A.)
Pharmacologie		SCHMITT (H.)

D. - PROFESSEURS DETACHES
DANS LES UNIVERSITES ETRANGERES

Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.)
	Pr. s. ch.

E. - PROFESSEURS ASSOCIES

Hormonologie	MORICARD (R.)
Statistique médicale et épidémiologie .	SCHWARTZ (D.)
Néphrologie	MAXWELL (M.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseiller administratif	Mlle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en chef de la bibliothèque)	
Conservateur du Musée d')	M. le Docteur HAHN (A.)
Histoire de la Médecine)	
	Mme FORGET (F.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.),
	LAURENT (H.), LE NOIR (G.)
	Mme CONTET (J.)
	Mlles DUROZOY (M.-F.),
Bibliothécaires	ROBERGE (D.), LE QUANG LINH
	(G.), REUGE (M.)

A la mémoire de mon Père

A chaque instant sa pensée m'est un
soutien précieux

A ma Mère

En témoignage de ~~môn~~ infinie reconnaissance.

A mon Mari,

fidèle compagnon d'études

Avec toute ma tendresse.

A mon Frère,

en gage de ma profonde affection.

A ma Famille,

A mes Amis,

A Monsieur le Professeur André MONSAINGTON

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Avec une extrême bienveillance, il m'a
guidée tout au long de mes études et a
su me donner le goût de la recherche.

Ce travail me devient précieux dès lors
qu'il me permet de lui témoigner ma
gratitude, mon indéfectible attachement
et ma très profonde admiration.

A Monsieur le Professeur Agrégé Daniel ALAGILLE

Qui, après m'avoir accueillie dans son service, a bien voulu me confier le sujet de cette thèse.

En faible témoignage de mon immense admiration et de ma profonde reconnaissance pour son très précieux enseignement.

A Monsieur le Docteur Michel ODIEVRE

Pas à pas, il a bien voulu me guider de
ses conseils éclairés dans l'élaboration
de ce travail.

Qu'il soit assuré de mon admiration
et de ma très vive gratitude.

A mes Maîtres d'Externat dans les Hôpitaux

Monsieur le Professeur A. MONSAINGEON

Monsieur le Docteur J. FOUQUET †

Monsieur le Professeur Agrégé C. SORS

Monsieur le Professeur G. TARDIFU

Monsieur le Professeur Agrégé A. MINKOWSKI

Monsieur le Docteur C. BACH

Monsieur le Professeur M. AUSSANAIRE

Monsieur le Professeur Agrégé D. ALAGILLE

Qu'ils trouvent ici l'expression de
ma respectueuse reconnaissance pour
leur enseignement.

A toute l'équipe du Centre Départemental de
Transfusion sanguine (Service de la Maladie
Hémolytique et du Nouveau-Né), et tout
particulièrement

A Monsieur le Docteur F. PINON

qui a bien voulu m'ouvrir les portes de son
laboratoire et me faire bénéficier de sa
grande expérience.

Avec mes remerciements les plus chaleureux

A Mademoiselle SAUVAGNOT

A Madame LUZEAU

Sans leur participation technique, ce travail
n'aurait pu être réalisé.

Leurs conseils ont été pour moi un appui
inestimable.

Qu'elles soient assurées de
ma profonde reconnaissance.

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à
l'élaboration de ce modeste travail.

MESURE DE LA BILIRUBINE NON CONJUGUEE ET NON LIEE
A L' ALBUMINE PAR FILTRATION SUR COLONNE DE GEL SEPHADEX

PREMIERS RESULTATS AU COURS DES
HYPERBILIRUBINEMIES NEO-NATALES

INTRODUCTION ET PLAN

Le danger commun des hyperbilirubinémies de la période néo-natale, quel qu'en soit le mécanisme, est représenté par la possibilité de survenue d'une encéphalopathie bilirubinémique. Si l'ictère nucléaire peut être prévenu par un traitement précoce, il n'est qu'assez exceptionnellement influencé par les méthodes thérapeutiques actuelles une fois ses signes apparus. L'exsanguino-transfusion représente la seule arme préventive absolument efficace mais tout le problème réside dans l'opportunité d'un tel acte. Sa décision doit être prise en fonction de tout un ensemble de données cliniques et biologiques. Parmi ces dernières, le taux de bilirubinémie totale ou son évolution constituent les moyens les plus directement mesurables pour décider une exsanguino-transfusion.

Ces dernières années, il est apparu que la liaison de la bilirubine libre avec la sérum-albumine joue un rôle "protecteur"; retenant la bilirubine dans l'espace vasculaire et empêchant sa diffusion dans le parenchyme cérébral ; cette liaison peut subir certaines variations et c'est ainsi qu'à taux de bilirubine sérique égal on peut se trouver en présence d'une quantité plus ou moins importante de bilirubine non liée à l'albumine, et donc disponible pour pénétrer les cellules cérébrales et y déterminer des lésions irréversibles. Une approche théoriquement plus valable dans l'appréciation du danger potentiel de l'hyperbilirubinémie a vu le jour avec la mesure de la capacité de fixation de la bilirubine par l'albumine.

La mesure directe de la bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine par filtration sur colonne de gel Séphadex s'avérerait susceptible de mieux évaluer les risques inhérents à l'hyperbilirubinémie et, partant, de favoriser un choix plus sélectif et plus sûr de l'exsanguino-transfusion.

Le but de ce travail est d'évaluer l'intérêt pratique d'une telle méthode.

Nous avons adopté le plan suivant :

I - RAPPEL DU METABOLISME NORMAL DE LA BILIRUBINE

II - LES MECANISMES DE SURVENUE DE L'ICTERE NUCLEAIRE

- 1 - Toxicité de la bilirubine libre pour les cellules cérébrales
- 2 - Passage de la bilirubine à travers la "barrière hémocérébrale"
- 3 - Liaison plasmatique de la bilirubine libre avec la sérum-albumine

III - TECHNIQUE DE MESURE DE LA BILIRUBINE NON LIEE A L'ALBUMINE
PAR FILTRATION SUR COLONNE DE GEL SEPHADEX

IV - APPLICATIONS CLINIQUES

- 1 - Matériel d'études
- 2 - Techniques
- 3 - Résultats

V - COMMENTAIRES

VI - CONCLUSIONS

A/ - MECANISME BIOLOGIQUE DE FORMATION

Le pigment biliaire principal, la bilirubine, provient de la protoporphyrine hémoglobinique.

Chimiquement, cette origine - connue depuis fort longtemps - est pleinement confirmée par le fait que les formules de l'hémoglobine et de la bilirubine sont presque identiques : toutes deux sont des dérivés tétrapyrroliques ayant les mêmes chaînes latérales.

L'hémoglobine est formée d'une protéine, la globine, et de quatre groupements prosthétiques ou hèmes, complexes ferreux d'une porphyrine (Protoporphyrine IX de type III). Le phénomène chimique essentiel de la formation de bilirubine est l'ouverture du noyau tétrapyrrolique :

1° - Le noyau protoporphyriniques s'ouvre au niveau du pont méthénique α . En 1963, NAKAJIMA et ses collaborateurs (52) ont établi que cette réaction est catalysée par une enzyme : l'hème- α -méthényloxygénase dont le foie est l'organe le plus riche.

L'activité enzymatique exige - comme co-facteurs - le phosphate de nicotinamide - adénine - dinucléotide réduit (NADPH ou TPNH), les ions ferreux et un activateur extractible des noyaux cellulaires.

Cette réaction aboutit à la formation d'un pigment vert intermédiaire caractérisé par une bande d'absorption à 656 m μ (52).

2° - Puis cet "intermédiaire" est transformé - par hydrolyse acide - en biliverdine par une deuxième enzyme : l'hème- α -méthénylformylase, avec libération de fer et de formaldéhyde (34).

Cette transformation ferait intervenir un facteur plasmatique qui - d'après NAKAJIMA - serait l'haptoglobine.

.../...

3° - La 3ème étape consiste en la réduction de la biliverdine en bilirubine.

En 1965, SINGLETON et LESTER (68) ont mis en évidence dans les organes - et particulièrement le foie et la rate - une enzyme spécifique catalysant cette réaction : la biliverdine - réductase.

Le co-facteur NADH est indispensable pour cette réaction.

La bilirubine ainsi formée et libérée dans le plasma est la bilirubine libre, insoluble dans l'eau, soluble dans les lipides et les solvants organiques.

B/ - SOURCES DE LA BILIRUBINE DANS L'ORGANISME

- Suivant la conception classique, la bilirubine prend naissance uniquement au cours de la dégradation de l'hémoglobine du sang circulant ; hémoglobine libérée par les érythrocytes vieillissants et captée par les cellules du système réticulo-endothélial (essentiellement au niveau de la moëlle osseuse, de la rate et du foie).

- Plus récemment (38, 61, 64, 74) l'emploi des précurseurs (glycine et acide Δ -amino-lévulinique) marqués par des isotopes, a montré qu'une partie des pigments biliaires (15 à 20 % environ à l'état normal) provient de sources autres que l'hémoglobine circulante.

On a pu ainsi mettre en évidence une fraction "précocément marquée" de la stercobiline excrétée.

. D'après certains auteurs, cette fraction "précoce" proviendrait des érythroblastes détruits dans la moëlle osseuse.

. D'autres données plaident en faveur d'une synthèse non médullaire mais hépatique (64), synthèse qui pourrait s'opérer non seulement à partir de l'hème, mais également de ses précurseurs simples glycine et acide Δ -amino-lévulinique (38, 74).

.../...

. La bilirubinogénèse hépatique à partir de l'hème pourrait être sous la dépendance des trois enzymes précédemment cités, mais d'autres sources que l'hème sont également possibles comme les porphyrines ou d'autres dérivés pyrroliques.

- L'importance clinique de cette fraction (qui au cours de certains états pathologiques peut atteindre 80 %) a été précisée. C'est ainsi que 2 nouvelles affections ont pu être décrites :

- . En 1959, par ISRAELS et ses collaborateurs (1958) ; l'hyperbilirubinémie essentielle par shunt ; affection dans laquelle il semble que le lieu de la transformation de l'hème en pigment biliaire soit la moëlle osseuse (74).
- . En 1964, par l'Ecole de WATSON (8) : l'ictère dysérythropoïétique idiopathique, caractérisé par la surproduction des pigments biliaires en l'absence d'hémolyse.

C/ - TRANSPORT ET EXCRETION HEPATIQUE DE LA BILIRUBINE PLASMATIQUE

1° - Le transport plasmatique

On sait depuis longtemps que la bilirubine se trouve dans le plasma sanguin, liée aux protéines (48, 51, 60).

Le rôle prépondérant pour ne pas dire pratiquement exclusif de la sérum-albumine comme vecteur de la bilirubine libre a été démontré par de nombreux auteurs.

Utilisant du C¹⁴, OSTROW et SCHMID (60) ont pu établir en 1963 qu'une molécule de sérum-albumine fixe deux molécules de bilirubine à pH 7,3.

Cette liaison permet à la bilirubine libre d'être maintenue en solution dans le plasma sanguin et d'être protégée de la dégradation oxydative.

C'est seulement dans des conditions expérimentales réalisées

.../...

in vitro, où la capacité de fixation de l'albumine est débordée, qu'une fraction de la bilirubine peut se fixer sur d'autres protéines du sérum α ou β globulines spécifiques (25, 51, 55).

La capacité de liaison de la bilirubine à l'albumine paraît soumise à certaines variations dues : à la concentration de l'albumine, aux conditions de pH, à la présence de certaines substances d'origine endogène ou exogène ; ainsi l'hématine, les acides gras non estérifiés (N.F.F.A.), la sulfisoxazole, les ions salicylés ... peuvent - par compétition - déplacer la bilirubine de sa combinaison avec l'albumine (3, 4, 10, 23, 40, 55, 56, 67).

2° - L'épuration du plasma sanguin de la bilirubine s'opère essentiellement par le parenchyme hépatique qui excrète le pigment dans la bile.

a) - Le mécanisme du passage du pigment dans la cellule parenchymateuse du foie est encore mal connu.

On a émis l'hypothèse d'un passage du complexe intact albumine - bilirubine, sa scission inter-cellulaire et le retour rapide de la protéine dans le milieu extra-cellulaire.

En fait, il semble plutôt qu'il s'effectue une dissociation de la bilirubine et de son support. Cette dissociation se ferait au niveau de la membrane de l'hépatocyte (10).

b) - La glycuco-conjugaison

En 1918, HIJMANS VAN DEN BERGH a individualisé deux modalités du comportement de la bilirubine plasmatique au cours de sa réaction avec l'acide diazo-benzène-sulfurique :

- . soit le mélange sérum-diazo réactif prend immédiatement une coloration rouge violacée caractéristique,
- . soit la réaction est retardée et peut être transformée en réaction immédiate par adjonction d'alcool (20).

.../...

La 1ère éventualité caractérise la bilirubine directe, la seconde, la bilirubine indirecte

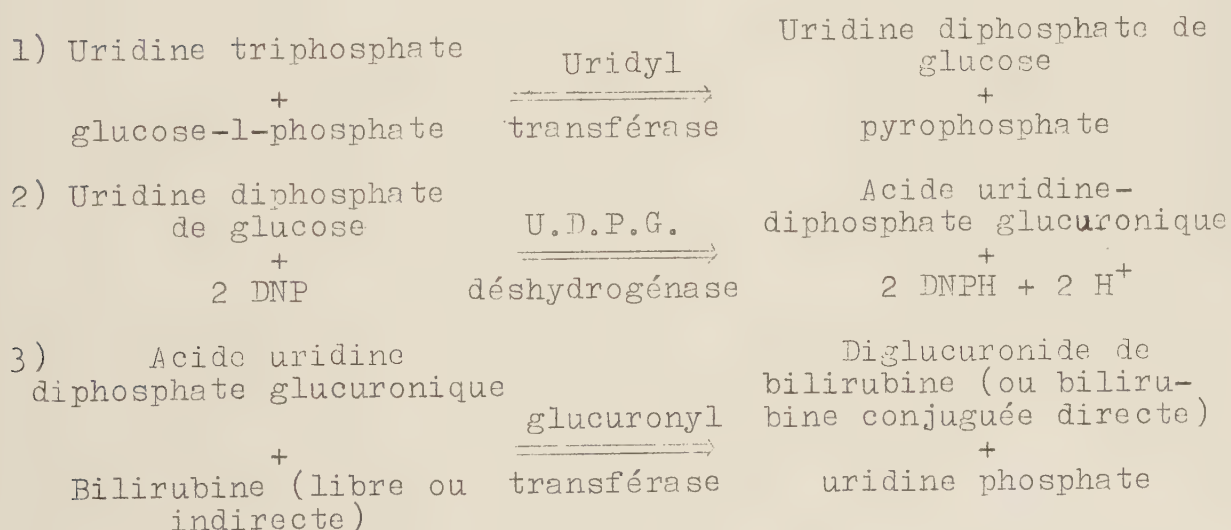
En 1954, par une technique chromatographique à phase inversée, COLT et BILLING (21) ont réussi à séparer deux fractions bilirubiniques :

- la fraction à mobilité plus rapide (B) était soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme,
- la fraction la plus lente (A) insoluble dans l'eau, était soluble dans le chloroforme.

En 1956, SCHMID a réussi à séparer les azo-pigments A et B. Il a établi que le premier correspond à la bilirubine libre (indirecte), le second à un dérivé glucurono-conjugué du pigment biliaire.

Une molécule de bilirubine libre fixe deux molécules d'acide glucuronique qui estérifient les deux groupements carboxyliques de la bilirubine.

On peut ainsi schématiser la glucurono-conjugaison de la bilirubine qui dépend en grande partie du système complexe de la membrane externe des hépatocytes et de celle de divers organites intracellulaires :



Dans le tissu hépatique, l'enzyme spécifique (glucuronyl-transférerase) catalysant la réaction (3) est localisée aux

.../...

microsomes et à la fraction lisse du cytoplasme réticulaire (3, 6).

D'après les travaux de GRODSKY et CARBONE (in 34) chez le rat, sur la distribution du système catalysant la glucuro-conjugaison de la bilirubine, il apparaît que le foie est de loin l'organe de plus actif. L'activité du tissu rénal in vitro n'est pas négligeable mais sa réalité in vivo est discutée ; de même pour la muqueuse intestinale.

La conjugaison est à peine décolable avec le tissu cérébral, nulle au niveau de la rate, les muscles et le sang. De plus, ISSELBACHER et MAC CARTHY (39) ont rapporté des observations expérimentales qui plaident en faveur de dérivés sulfo-conjugés.

On a également signalé la possibilité de la conjugaison de la bilirubine avec la glycine.

c) - Elimination des dérivés conjugués :

L'excrétion de la bilirubine dans la bile et dans les urines ne semble possible que pour la forme conjuguée, hydrosoluble du pigment.

La bilirubine libre, non conjuguée, n'est excrétée ni par la bile, ni par les urines. Grâce à l'obtention de bilirubine marquée C^{14} on a établi la réabsorption intestinale et vésiculaire de la bilirubine (45) ainsi que le passage de la bilirubine foetale à travers le placenta (44).

Il est assez remarquable que l'excrétion urinaire exige la forme conjuguée, hydrosoluble de la bilirubine, alors que l'absorption intestinale et vésiculaire, comme la traversée placentaire, sont plus efficaces pour la forme libre, liposoluble du pigment.

En fait, à l'heure actuelle, bien des mécanismes intimes de l'excrétion de la bilirubine restent encore assez obscurs.

I) TOXICITE DE LA BILIRUBINE LIBRE POUR LES CELLULES CEREBRALES

C'est le mérite de MOLLISON (50) d'avoir dès 1949 attiré l'attention sur le fait que les lésions encéphaliques, complication la plus redoutable de la maladie hémolytique néonatale et décrite sous le nom d'ictère nucléaire, n'apparaissent que chez les enfants atteints de jaunisse intense.

L'action nocive pour l'encéphale de la bilirubine non conjuguée a été prouvée par d'innombrables faits cliniques et par de nombreuses expériences faites sur l'animal vivant et sur des tissus isolés (24, 25, 28, 29, 32, 42, 66).

Lors de vérifications effectuées chez des enfants décédés d'ictère nucléaire au cours de la première semaine de la vie, on peut régulièrement constater macroscopiquement la coloration jaune du cerveau, évidente notamment au niveau des noyaux gris de la base où va se fixer le pigment de manière préférentielle.

On peut fréquemment retrouver également une coloration des noyaux cochléaires, vestibulaires et du III.

L'étude microscopique révèle l'existence d'une véritable nécrose cellulaire avec raréfaction de la population cellulaire, turgescence capillaire et réaction microgliale évidente.

Les caractères physico-chimiques du pigment qui colore les noyaux gris centraux de la base sont bien ceux de la bilirubine et il a été prouvé qu'il appartient bien à la variété non conjuguée.

On a pu, chez diverses espèces animales, reproduire expérimentalement un ictère nucléaire par injections de solution de bilirubine dans la carotide.

Le mécanisme de l'action toxique de la bilirubine "libre" n'est pas encore solidement établi. De récents travaux ont apporté des preuves de la toxicité de la bilirubine au niveau cellulaire.

On a mis en évidence la diminution des activités métaboliques de la cellule cérébrale et hépatique, de l'activité des mito-

chondries, de la croissance de cultures de tissus et d'organismes unicellulaires (25, 28, 30, 32, 66).

Au niveau du tissu cérébral, DAY (28) a constaté une diminution de la consommation d'oxygène. D'autres auteurs (66, 71) ont observé une inhibition de la fonction respiratoire tissulaire, du transport des électrons.

ZETTERSTROM et ERNSTER (75) pensent que la dépression des cofacteurs du métabolisme tels que le D.P.N. et le cytochrome est secondaire à une inhibition des processus de phosphorylation oxydative (31, 32).

Les réactions de phosphorylation s'effondrent à partir de fortes concentrations de bilirubine voisines de 20 mg pour 100 ml de sérum (2).

2) LE PASSAGE DE LA BILIRUBINE A TRAVERS LA "BARRIERE HEMO-cérébrale"

a) La notion d'une "barrière hémoméningée" protégeant le parenchyme cérébral a été conçue à la suite des expériences effectuées par ERLICH et LEWANDOWSKY en 1885 puis 1900 et reprises par GOLDMAN en 1913.

Ce phénomène physiologique indiscutable reste difficile à définir : le siège anatomique de cette "barrière" a fait l'objet de nombreuses discussions ; en 1926, GOLDMAN, STERN et GAUTIER (in 9) la situaient exclusivement au niveau des plexus choroïdes.

Dans l'état actuel de nos connaissances :

- . Histologiquement, les plexus choroïdes ont perdu leur rôle primordial pour s'intégrer dans l'ensemble plus vaste des vaisseaux cérébraux dont les parois seraient en contact direct avec le tissu nerveux, sans interposition d'espace péri-vasculaire comme dans la circulation systémique. Ainsi, l'endothélium vasculaire, la membrane basale et les astrocytes (9) semblent représenter les éléments anatomiques chargés de défendre le

.../...

parenchyme cérébral contre certaines agressions d'origine humorale.

Le terme de "barrière hémocérébrale" (capillaro-cérébrale) semble plus évocateur.

- . Physiologiquement, la réalité de cette "barrière" a été confirmée par des études récentes faites au P^{32} et au Na^{24} .

b) La perméabilité de la barrière hémocérébrale est très sélective :

C'est ainsi que la bilirubine directe glycuco-conjuguée n'est absolument pas nocive pour le système nerveux cérébral ; en effet, la barrière hémocérébrale s'avère imperméable aux larges molécules hydrosolubles dont elle fait partie (7, 31, 55). Par contre, la bilirubine indirecte, libre, lipo-soluble peut - de par son affinité pour les lipides - franchir la membrane protido-lipidique, pénétrer dans la cellule nerveuse et y déterminer des lésions.

Mais un point est capital : pour pénétrer dans les cellules la bilirubine ne doit pas se trouver à l'état lié, mais à l'état dissocié.

Le passage ne peut en aucun cas s'effectuer sous la forme du complexe albumine-bilirubine (30, 31, 55).

La barrière est imperméable aux molécules aussi grandes que l'albumine. Ceci a été prouvé par des études réalisées avec de l'albumine marquée et également in vitro où la toxicité de la bilirubine pour la respiration cellulaire a pu être abolie par liaison du pigment à l'albumine (24).

c) La perméabilité de la barrière hémocérébrale peut se trouver modifiée de diverses façons surtout dans la période néo-natale où des conditions anormales de fonctionnement se trouvent plus aisément réalisées.

Ainsi l'anorexie cérébrale, l'acidose, augmentent de

.../...

façon certaine le passage du pigment à travers la barrière hémocérébrale chez l'animal (30) ; l'hyperammoniémie faciliterait également l'accès à la cellule nerveuse ; l'action des corticoïdes serait - à l'inverse - de diminuer la perméabilité de la barrière (9).

3) LA LIAISON PLASMATIQUE DE LA BILIRUBINE LIBRE AVEC LE SÉRUM-ALBUMINE

- a) Dans le plasma, la bilirubine est transportée sous une forme liée à l'albumine sérique.

La liaison de la bilirubine avec la sérum-albumine a fait l'objet de nombreuses études : (méthodes de dialyse compensatrice (MARTIN), de filtration (SCHMID), électrophorèse, centrifugation (in 56)) au terme desquelles il apparaît que, dans les conditions physiologiques, la seule protéine vectrice du pigment est l'albumine du sérum.

Les travaux de MARTIN (48) ont montré qu'à pH 7,4 , une molécule d'albumine fixe environ 2 molécules de bilirubine.

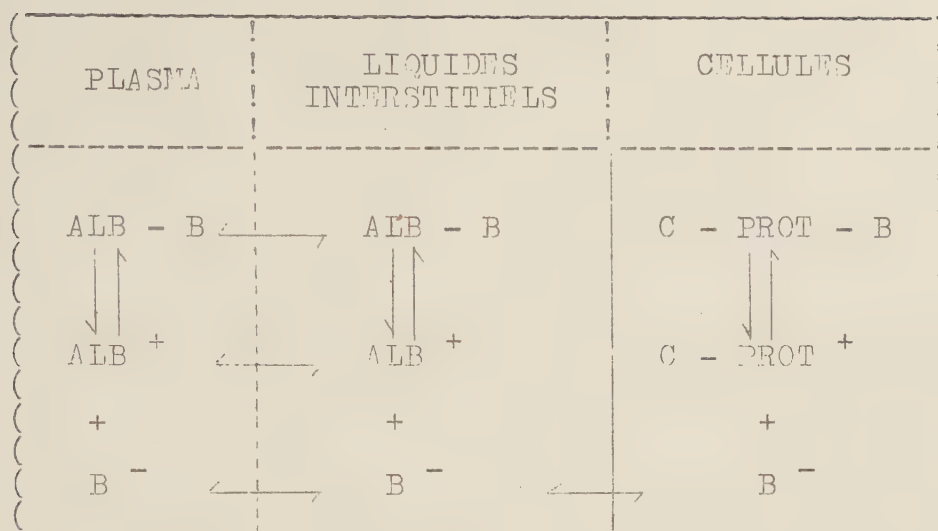
La possibilité de pénétration dans les cellules pour la bilirubine nécessite qu'elle se trouve à l'état dissocié et non lié.

C'est la fraction dissociée de la bilirubine totale circulante qui détermine le gradient de diffusion à travers la membrane cellulaire.

La direction du gradient est fonction des concentrations de bilirubine dissociée de chaque côté de la membrane cellulaire, plus que de la quantité de bilirubine totale de part et d'autre.

ODELL (56) a ainsi schématisé la distribution de la bilirubine dans l'organisme :

. ./...



----- perméable à l'albumine

————— imperméable à l'albumine

B - = bilirubine dissociée ou "libre"

ALB - B = complexe bilirubine-albumine

L'albumine joue vis-à-vis de la bilirubine un rôle d'accepteur vraisemblablement de la même façon qu'elle le fait vis-à-vis de nombreux autres anions organiques.

La liaison de ces anions suit les lois générales d'action de masse et peut-être exprimée par l'équation générale :

$$\frac{[ALB +][B -]}{[ALB - B]} = K$$

où ALB et B représentent respectivement l'albumine et l'anion et K est la constante de dissociation du complexe albumine-anion.

Les sites moléculaires spécifiques au niveau desquels se forme le complexe albumine-bilirubine ne sont pas définis de façon absolue mais selon ODELL (56), il s'agirait probablement :

- . des groupements aminés cationiques de l'albumine,
- . et des groupements carboxyl de l'acide propionique de la chaîne latérale de la bilirubine.

- b) Les variations de la concentration d'albumine sérique retentissent sur la concentration de bilirubine totale et dissociée ; c'est ainsi que si le taux d'albumine sérique est bas - comme c'est souvent le cas chez le prématuré - l'albumine devient rapidement saturée pour des taux relativement bas de bilirubinémie.
- c) De plus, certaines substances peuvent entrer en compétition avec la bilirubine au niveau des sites de fixation sur l'albumine.

SILVERMANN (in 56) a observé que les prématurés traités par sulfamide, sulfisoxazole, développaient un ictère nucléaire six fois plus fréquemment que des témoins non traités.

In vitro, on a pu mettre en évidence que le sulfisoxazole déplace la liaison albumine-bilirubine (56).

On retrouve ce pouvoir de dissociation du complexe albumine-bilirubine par compétition, pour d'autres substances : la sulfaméthoxypyrimidine, la caféine et surtout le salicylate de sodium.

Certains dérivés héméniques (hématine - méthalbumine) peuvent réduire également la capacité de liaison de l'albumine du sérum. Il y a compétition entre les pigments hème et la bilirubine pour un site commun de fixation sur la molécule d'albumine.

On trouve là une explication possible au rôle aggravant de l'hémolyse. Dans ces conditions, il est possible que les concentrations de bilirubine diffusible soient dangereusement élevées alors que le taux de bilirubinémie totale est relativement bas.

De la même façon, les acides gras libres (N.F.F.A.) seraient capables de déplacer la bilirubine de sa combinaison protéique augmentant ainsi le risque d'encéphalopathie bilirubinique (49, 54).

d) A côté de ce mécanisme de compétition, il faut envisager la possibilité de réduction du capital de fixation que représente l'albumine par modification de l'équilibre acido-basique du plasma.

MARTIN a mis en évidence les variations de la liaison albumine-bilirubine en fonction du pH.

- . A pH 7,4 une molécule d'albumine fixe 1,9 molécule de bilirubine,
- . A pH 7,9 elle en fixe 3
- . Mais à un pH acide inférieur à 7,0 la dissociation est complète et la bilirubine n'est plus fixée sur l'albumine (48, 58).

Bien qu'on ignore l'interaction exacte de la liaison albumine-bilirubine à des pH variés, on peut penser que toute acidose plasmatique a pour conséquence d'augmenter la fraction de la bilirubine immédiatement lipophile.

In vitro on a montré que le pouvoir des ions salicylés de déplacer la bilirubine de sa combinaison avec l'albumine augmente au fur et à mesure que le pH baisse (56, 58).

Chez le prématuré, l'acidose - quelle qu'en soit l'origine (détresse respiratoire par exemple) - peut rendre compte de la survenue possible d'ictère nucléaire malgré des taux relativement faibles de bilirubine (36, 58).

Il ressort de ces diverses constatations que la liaison de la sérum-albumine avec la bilirubine **non** conjuguée joue un rôle capital dans la répartition de la bilirubine libre dans les différents secteurs de l'organisme.

Elle en réalise la "neutralisation" en la retenant dans l'espace vasculaire, ce qui interdit sa diffusion dans le parenchyme cérébral.

Mais le pouvoir "protecteur" de cette liaison peut être perturbé de différentes façons : diminution de la concentration de l'albumine du sérum, déplacement de la bilirubine de sa

combinaison avec l'albumine au cours du jeûne, de l'acidose, de l'action compétitive de certaines substances d'origine endogène ou exogène, ce qui aboutit à l'accumulation de bilirubine libre non liée à l'albumine et donc disponible pour pénétrer dans le parenchyme cérébral.

Lorsque les conditions physio-pathologiques s'éloignent de la normale, l'appréciation du taux de bilirubine sérique ne devient qu'un guide grossier qui rend mal compte de l'état d'équilibre créé par la liaison plasmatique albumino-bilirubinique et demeure insuffisant.

L'appréciation de la quantité de bilirubine diffusible, non liée à l'albumine revêt, elle, un intérêt capital.

Elle représente en effet la seule fixation réellement toxique pour le parenchyme cérébral, puisque susceptible de franchir la barrière hémocérébrale.

C'est elle que la technique de filtration sur colonne de gel Séphadex se propose d'évaluer.

.../...

LA TECHNIQUE DE MESURE DE LA BILIRUBINE NON LIEE A L'ALBUMINE PAR FILTRATION SUR COLONNE DE GEL SEPHADAX

III -

Principe de la méthode

I -

Les travaux de N. H. BRIGHT (19) ont montré que l'on fait passer du sérum d'enfant ictérique sur une colonne de gel, le premier éluat obtenu correspond à la fraction bilirubine conjuguée ou bilirubine non conjuguée mais liée à l'albumine.

S'il persiste au sommet de la colonne une coloration jaune après le premier passage, elle est due à la présence de bilirubine libre non liée à l'albumine ; cette fraction de bilirubine "toxique" peut être recueillie dans un deuxième éluat grâce à l'adjonction d'une solution préparée d'albumine humaine puis mesurée au spectrophotomètre.

Matériel utilisé

2 -

1) La colonne

a les dimensions suivantes : 10 cm de haut, 0,6 cm de diamètre intérieur. Elle est remplie avec du gel Sephadex G 25 fine suivant les techniques usuelles.

2) Le sang

provenant des enfants ictériques et prélevé par voie veineuse et immédiatement placé à l'abri de la lumière puis centrifugé après coagulation spontanée.

Le sérum recueilli est utilisé immédiatement, sinon conservé jusqu'au lendemain à + 4°C et toujours à l'abri de la lumière.

Technique

3 -

Deux colonnes A et B sont utilisées simultanément

On fait passer sur la colonne A - dans un premier temps 250 µl du sérum à étudier ; ils sont déposés au contact immédiat de la surface du gel (qui doit être très plane).

Lorsque ceux-ci se sont écoulés (donc après leur filtration) on dépose 1 ml, puis 3 ml, puis 3 ml de tampon phosphate (0,1 M pH : 7,3).

Le premier éluat ainsi obtenu contient la bilirubine conjuguée ainsi que la fraction de bilirubine non conjuguée liée à l'albumine plasmatique de l'échantillon étudié.

• Dans un deuxième temps, on fait passer 500 µl d'une solution d'albumine humaine plasmatique à 17,5 %, ramené à une concentration de 2,5 % dans du tampon phosphate 0,1 M. Mt à nouveau 1 puis 3 ml de tampon phosphate comme précédemment.

• Le 2ème éluat ainsi obtenu (4,5 ml) est placé dans une cuve de un cm d'épaisseur et lu au spectrophotomètre à 465 mµ, 440 et 400 mµ (qui sont respectivement les pics d'absorption du complexe bilirubine-albumine, de la bilirubine non liée à l'albumine et de l'albumine) contre un blanc.

Ce blanc est l'éluat obtenu dans la colonne B par les mêmes procédés qu'en A à ceci près qu'on s'abstient évidemment de tout passage de sérum.

4 - Mode d'expression des résultats

Dans sa communication, Nancy BRIGHT rapporte qu'elle exprime les résultats obtenus en fonction de la présence d'une coloration jaunâtre au sommet de la colonne ou de son absence

° Fournie par la C.M.E.S. de Paris, lot P 983, Flacon n° 00 Zeiss - B. 20.

D'après notre expérience, une quantité de bilirubine libre non liée à l'albumine inférieure à 5 mg/litre dans l'échantillon de sérum examiné ne peut être appréciée à l'œil nu par la persistance d'une coloration jaune de la colonne.

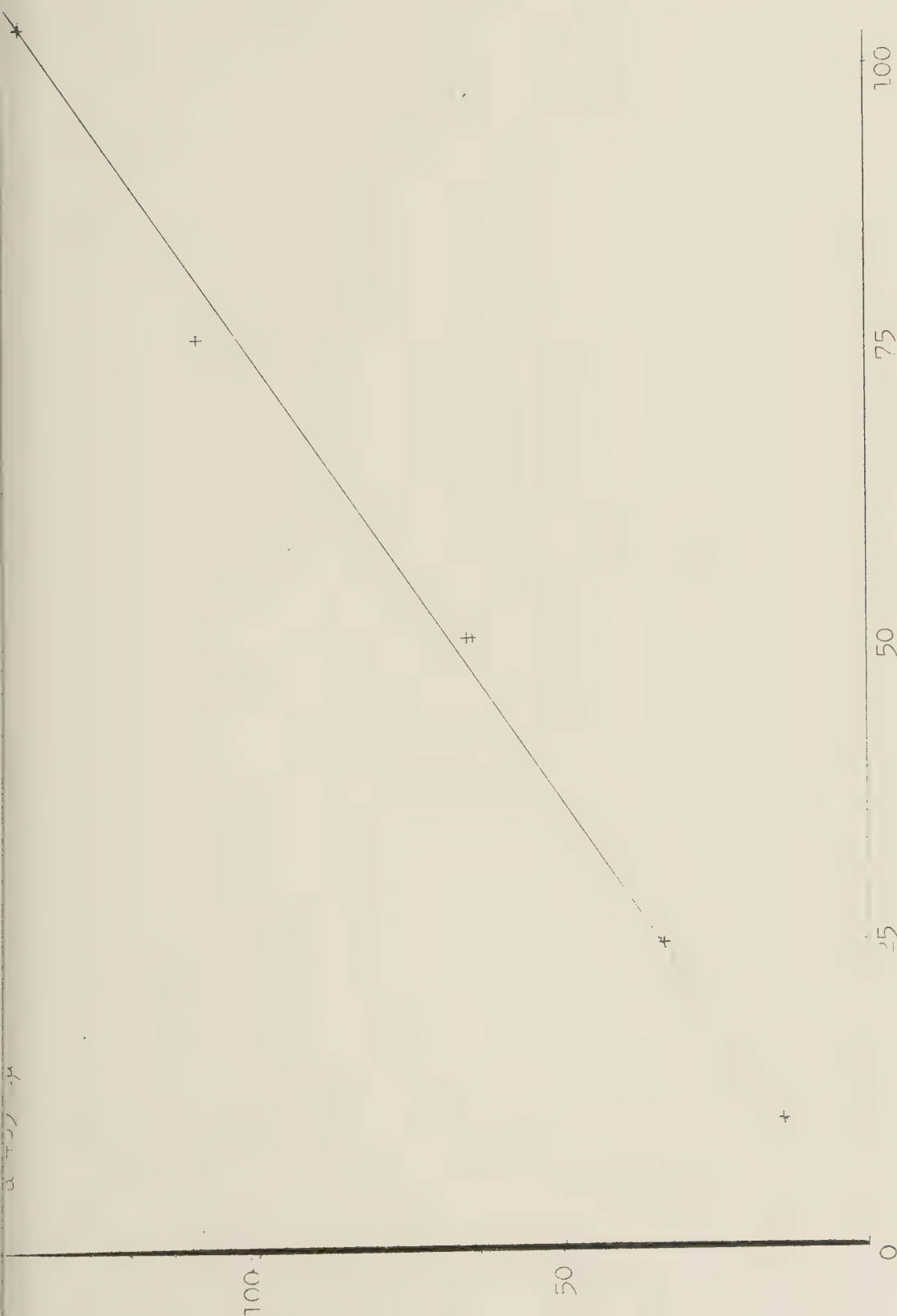
En l'absence de données évolutives puisque nous ne disposons par de recul suffisant, il semble préférable de ne pas méconnaître les taux inférieurs à 5 mg/litre. Nous avons donc été conduits - lorsque la colonne redevenait macroscopiquement blanche après passage du tampon (1er éluat) - à rechercher par mesure spectrophotométrique du 2ème éluat, la présence de quantité minime de bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine.

En l'absence d'une évaluation chiffrée précise de ces faibles quantités de bilirubine non liée à l'albumine, (étude actuelle en cours), nous avons préféré utiliser le système de notation suivant :

+++	Importante coloration jaunâtre de la colonne
++	Coloration jaunâtre modérée mais visible à l'œil nu
+	Absence de coloration optiquement visible
	DO à 465 mμ comprises entre 0,005 et 0,015
±	DO à 365 mμ inférieure à 0,005
0	DO nulle

DO : déviation optique mesurée à 465 mμ (différence entre la DO correspondant au 2ème éluat et celle correspondant au blanc.

0-100-200



Courbe de bilirubine B.D.H. liée à l'albumine

Courbe n° 1



Une courbe étalon (courbe n° 1) a été établie à partir de concentrations différentes de bilirubine commerciale, de un mélange d'albumine humaine et de tampon-phosphate (0,5 : 3 V/V). Nous avons utilisé successivement de la bilirubine Calbiochem puis de la bilirubine B D H.

IV -

APPLICATIONS CLINIQUES

A - MATRIEL D'ETUDE

I - La technique de mesure de la bilirubine non liée à l'albumine, par filtration sur gel Sephadex, demandait pour sa mise au point d'être appliquée au plus grand nombre de cas possible.

Ceci a pu être en partie réalisé grâce aux Médecins du Centre Départemental de Transfusion Sanguine (Service de la Maladie hémolytique et des ictères du nouveau-né) qui nous ont procuré 115 échantillons de sérum provenant de prélèvements de sang effectués dans divers centres chez 86 nouveaux-nés ictériques :

- . soit au cours de vérification de taux élevés de bilirubine,
- . soit, le plus souvent, au début d'une exsanguino-transfusion,
- . soit, enfin pour des contrôles ultérieurs.

Après séparation par centrifugation, les sérums étaient conservés à + 4°C, à l'abri de la lumière. Le délai écoulé entre le recueil, la réception des sérums au laboratoire de recherches du Professeur D. ALAGILLE à l'Hôpital PARROT (Kremlin-Bicêtre) et leur étude sur colonne, ont fréquemment dépassé 24 heures.

Dans ce premier groupe d'échantillons, parallèlement à la mesure de la bilirubine libre et non liée à l'albumine, ont été effectués au C.D.T.S. :

- . un dosage de la bilirubinémie totale : Groupe I A (80 échantillons)
- . un dosage de la bilirubinémie totale et une mesure de la capacité résiduelle de fixation de la sérum-albumine pour la bilirubine par l'H.B.A.B.A. : Groupe I B (35 échantillons).

.../...

Ce n'est que secondairement que les résultats ont pu être réunis pour une confrontation a posteriori ; ils n'ont donc en aucun cas pu influencer les décisions d'exsanguino-transfusion qui étaient prises par les Médecins. transfuseurs du C.D.T.S. en fonction des critères classiques ("seuil" critique de bilirubinémie voisin de 20 mg $\bar{C}$ pente de bilirubinémie, compte tenu de l'âge, de la prématurité éventuelle, de l'état clinique en particulier neurologique, du pH ...).

II - Le deuxième groupe étudié concerne 21 nouveaux nés ictériques hospitalisés dans le service du Professeur D. ALAGILLE, durant une période s'étendant de juillet 1968 à avril 1969.

Lors de chaque prélèvement de sang, permettant d'adresser au C.D.T.S. un échantillon de sérum en vue d'un dosage de la bilirubinémie totale, un second échantillon était soumis à la filtration sur colonne de gel Sephadex dans des délais optima (puisque la mesure était immédiatement effectuée dans le laboratoire attenant au service) permettant de déceler en moins d'une demi-heure la présence éventuelle de bilirubine non liée à l'albumine.

En fonction des résultats obtenus nous avons dans certains cas cherché à peser sur les indications de l'exsanguino-transfusion, mais - par accord préalable - la décision finale revenait aux Médecins du C.D.T.S.

Nous avons donc été amenés, en fonction de chaque cas, à adopter l'une des attitudes thérapeutiques suivantes :

. abstention : lorsque la filtration du sérum sur gel ne décelait aucune trace de bilirubine libre non liée à l'albumine,

. ou, dans la mesure du possible, dès le résultat positif du dosage sur colonne, mise en place d'une perfusion

.../...

d'albumine humaine (à raison de 0,30 g/kg de poids corporel à passer en 1 heure) visant à augmenter la quantité d'albumine susceptible de se combiner à la biliubine libre et ainsi à éviter ou à retarder l'exsanguino-transfusion.

. Exsanguino-transfusion (précédée ou non d'une perfusion d'albumine).

Dans la plupart des cas, une nouvelle estimation de la quantité de bilirubine libre et non liée à l'albumine a été effectuée en début d'exsanguino-transfusion et éventuellement dans les heures suivantes.

B - TECHNIQUES DE LABORATOIRE UTILISEES

1 - Les dosages de bilirubine totale ont tous été effectués au Centre Départemental de Transfusion Sanguine

Les techniques utilisées sont celles de :

- . MALLOY et EVELYN (47)
- . JENDRASSIK et GROF (40),

techniques de colorimétrie indirecte, utilisant la diazo-réaction.

La révélation totale est effectuée par l'éthanol dont l'addition entraîne une précipitation des protéines sériques évitée par :

- . une forte dilution aqueuse (technique de MALLOY)
- . un mélange tampon au benzoate de sodium et à la caféine (technique de JENDRASSIK).

La lecture au spectrophotomètre s'effectue à 518 mμ, λ du maximum d'absorption.

2 - Technique de mesure de la capacité résiduelle de fixation de la sérum-albumine pour la bilirubine par l'acide 2 (4'hydroxy-benzène-azo) benzoïque (H.B.A.B.A.)

a) Principe

Cette méthode, proposée par RUSTIN et INGENITO (65) permet de déterminer si le degré de saturation de l'albumine par la bilirubine est atteint ou non.

Elle a été particulièrement étudiée par JOHNSON, PORTER et WATERS (63) qui ont pu la comparer à la technique voisine de HUGGINS et coll. utilisant la phénol-sulfone-phthaléine.

Elle est basée sur le changement caractéristique du spectre d'absorption de la teinture en solution aqueuse lorsque des quantités croissantes d'albumine sont ajoutées (63, 65). La différence entre les densités optiques de la solution d'H.B.A.B.A.-albumine et de la solution d'H.B.A.B.A. mesure la capacité de fixation du colorant par l'albumine. Elle varie de façon directement proportionnelle à la concentration d'albumine (11, 63 65).

L'addition de bilirubine au mélange H.B.A.B.A.-albumine se traduit par une diminution de la densité optique, exprimant une réduction de la fixation de l'H.B.A.B.A. (63), car la bilirubine déplace l'H.B.A.B.A. de sa combinaison avec l'albumine.

b) La technique

utilisée par le C.D.T.S. pour le dosage de la capacité de la fixation de la sérum-albumine par l'H.B.A.B.A. est celle décrite par PORTER et WATERS (63).

c) L'expression des résultats

diffère de celle utilisée

.../...

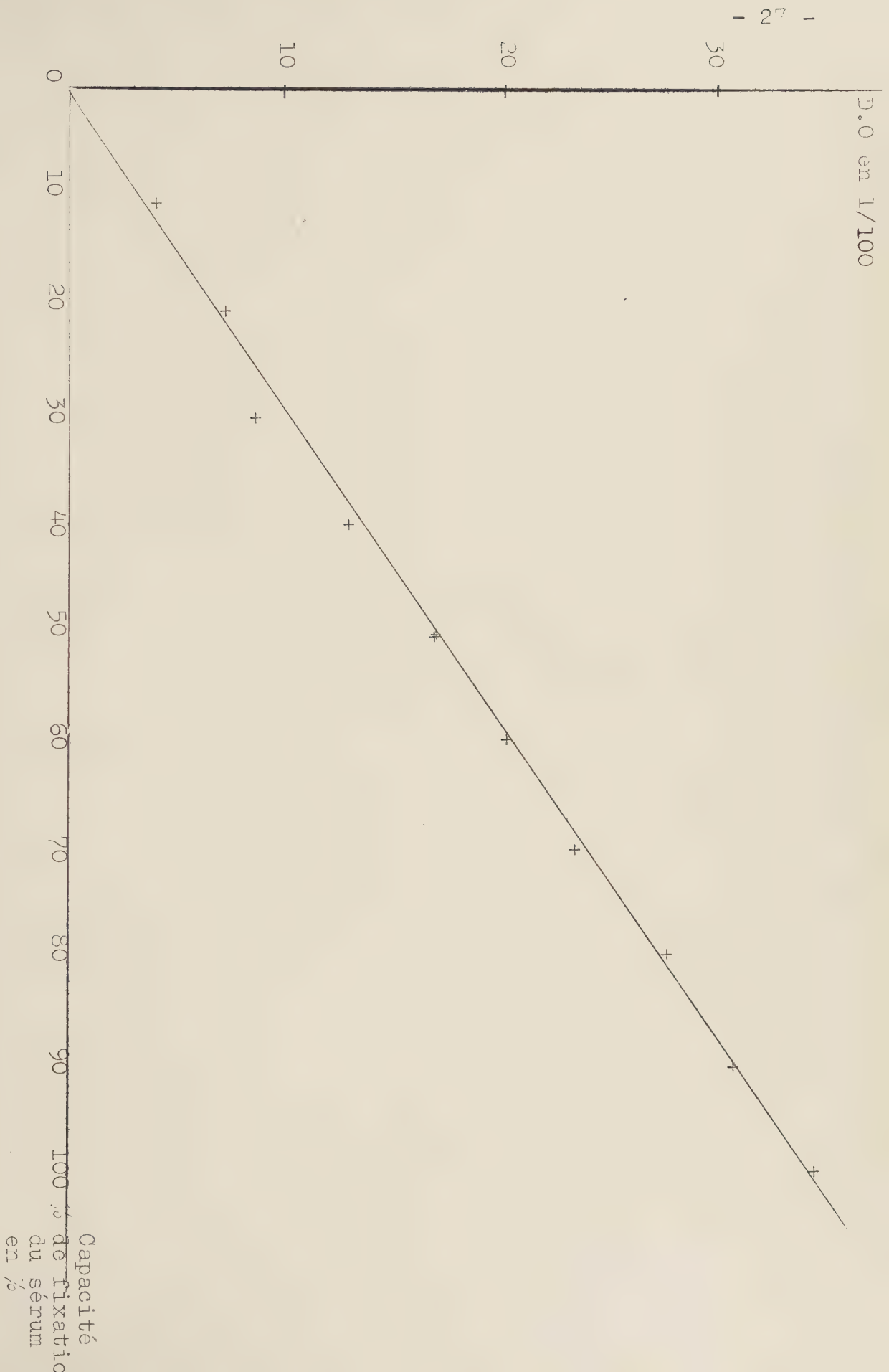
par PORTER et WATERS.

Elle utilise (62) un étalonnage réalisé à partir d'un sérum humain témoin.

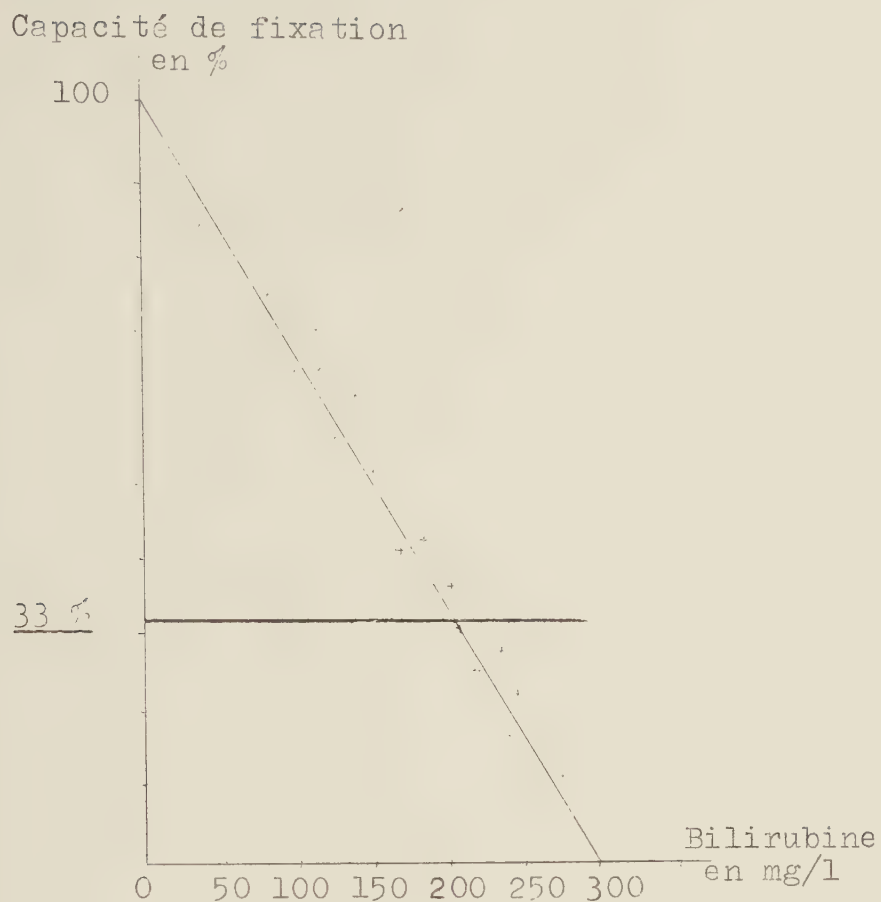
Une courbe-étalon (courbe n° 2) a pu être obtenue en mesurant la capacité de fixation de ce sérum à des dilutions croissantes (depuis le sérum entier jusqu'à 0,1).

La densité optique mesurée par le dosage est portée sur l'axe des ordonnées. On lit directement sur l'axe des abscisses la capacité de fixation du sérum étudié en % de la capacité de fixation du sérum entier (contenant 45g°/°° d'albumine).

Dans le système adopté par le C.D.T.S. on estime pouvoir parler de saturation pour un coefficient de 33 % (courbe n° 3).



Courbe - Etalon (H.B.A.B.A.)



Courbe n° 3

En tentant de saturer un sérum témoin par des quantités croissantes de bilirubine, on obtient pour un sérum donné une saturation.

Pour le sérum témoin utilisé au C.D.T.S. (45 g/l d'albumine) la droite obtenue coupe l'axe des abscisses vers 310 mg/l et atteint les 33 % (coefficient de saturation) vers 210 mg/l de bilirubine.

C - RESULTATS

GROUPE I A

Les 80 échantillons de sérum obligeamment fournis par le C.D.T.S. et correspondant à des prélèvements de sang effectués chez 59 nouveaux-nés ictériques, proviennent de divers services hospitaliers de la région parisienne.

Nous avons regroupé les résultats en fonction de l'étiologie de l'hyperbilirubinémie.

ETIOLOGIE	Nombre d'échantillons	Nombre d'enfants
Incompatibilité système Rh	28	16
Incompatibilité système ABO		
O/A	25	20
O/B	3	3
Ictère simple du prématuré	8	6
Autres étiologies	16	14

L'indication de l'exsanguino-transfusion a été posée sur les différents critères classiques, essentiellement le taux de bilirubine.

Par souci de clarté, nous ne retracerons ici qu'une partie de notre étude, la limitant dans la grande majorité des cas à des échantillons de sang prélevés en début d'exsanguino-transfusion.

Sur les tableaux ci-dessous, nous avons reporté les résultats des dosages : - de bilirubine totale effectués au C.D.T.S. de St Antoine selon la technique de MALLOY et EVELYN ou, pour les taux faibles, la technique de JENDRASSIK ; la bilirubinémie est exprimée en mg pour 100 ml de sérum.

- de la bilirubine libre et non liée à l'albumine, exprimé selon le système de cotation énoncé plus haut.

.../...

GROUPE I A

Incompatibilité système Rhésus

Tableau I

Enfants ayant subi une ou plusieurs exsanguino-transfusions.

N°	Nom	Heure ou jour du prélèvement	Bilirubine totale mg/100 ml sérum	Bilirubine non liée à l'albumine
1	MON..	H 36	20,8	+
2	ARN..	H 25 H 49	20,8 17,6	$\frac{+}{+}$
3	ETC..	J III J IV	29,6 19,2	++ +
4	LER..	H 90	19,2	$\frac{+}{+}$
5	HUM..	J III	18,4	+
6	LER..	J III	21,4	+
7	MAR..	H 81	20,2	+
8	DUP..	J II	15	+
9	DES..	H 2 H 6 H 11 H 32 H 71 H 78 H 101	19,8 23,2 20,8 14,8 32,2 25,8 22	++ +++ +++ +++ +++ ++
10	LEF..	J V	25,4	++
11	DOR..	H 10 H 16	15,6 12,2	$\frac{+}{+}$
12	DUP..	H 12 H 36	16,4 15	+ 0
13	DOM..	H 25 H 44 H 63	17,2 21,8 20,2	0 $\frac{+}{0}$
14	STR..	H 25	9,4	0
15	FAL..	H 5 H 8	7,8 9,8	0 $\frac{+}{+}$
16	CHF..	J II	24,8	+++

GROUPE I A

Incompatibilité O/A

Tableau II

Enfants ayant subi une ou plusieurs exsanguino-transfusions.

N°	Nom	Heure ou jour du prélèvement	Bilirubine totale mg/100 ml sérum	Bilirubine non liée à l'albumine
1	BOI..	H 60	36	+++
		H 63	22	++
2	MAR..	H 82	24,6	+
3	MUN..	J IV	25,8	+
		J V	27	+
		J VI	21	+
4	NAH..	H 99	22,8	+ -
5	DRO..	J IV	29,6	+
6	BER..	J III	20,2	+
		J IV	21	+
7	VIG..	H 53	19,6	+
8	LAR..	J V	23,2	+
9	REN..	J IV	22	+
		J V	23,6	0
10	DAG..	H 44	16,4	0
11	BIL..	H 62	21	+
12	MEY..	J V	22	±
13	ROC..	J V	23,6	++
14	REY..	J V	32,2	+++
15	LUZ..	J IV	22,4	+
16	GIR..	H 47	21,2	++
17	BAY..	J IV	20,2	+
18	LEF..	J III	21,8	+

Enfants non exsanguinés :

19	HEN..	J V	21,4	0
20	LHO..	J VII	24	0

GROUPE I A

Incompatibilité O/B

Tableau III

Enfants ayant subi une exsanguino-transfusion.

N°	Nom	Heure ou jour du prélèvement	Bilirubine totale %	Bilirubine non liée à l'albumine
1	BLA..	H 106	23,6	++
2	BOU..	H 75	23,	+
3	LOM..	J V	21,4	+

Ictère du Prématuré

Tableau IV

Enfants ayant subi une ou plusieurs exsanguino-transfusions.

	Nom	P.N. en grammes	Heure ou jour de prélèvement	Bilirubine totale mg/100 ml sérum	Bilirubine non liée à l'albumine
1	DEC	1700	J V	22,2	+
2	LEC	2160	J V	21,2	+
3	EAK	1420	J V	21,6	++
4	REN	1900	J V	23,6	+
5	BUL	2420	J IV	22,8	+
6	SER	1300	H 50	20,2	++
			H 75	22,2	++
			H 102	20,2	+

GROUPE I A

Ictères de cause indéterminée

Tableau V

Enfants ayant subi une ou plusieurs exsanguino-transfusions.

N°	Nom	Heure où pour du prélèvement	Bilirubine totale mg/100 ml sérum	Bilirubine non liée à l'albumine
1	REI..	J IV	22,8	+
2	SIL..	J IV	21	+
3	BIS..	J VI	25,4	++
4	DES..	J II	22	+++
		J III	23,2	+++
		J IV	19,6	++
5	THI..	J IV	19	+
6	BEN..	J V	23,6	0
7	RIB..	J II	18,4	±
8	COU..	J IV	20,2	+
9	BAY..	J III	20,2	+
10	TRF..	J V	23,2	+++

Enfants non exsanguinés :

11	MES..	J VII	18	0
12	GOU..	J V	19,2	0
13	HEN..	J V	21,4	0
14	MAZ..	J III	15,4	±

GROUP 1 B

Ce groupe comprend 35 échantillons de sérum fournis par le C.D.T.S. et provenant de prélèvements de sang effectués chez 27 nouveaux-nés ictériques, d'origine et d'étiologie diverses.

- . 13 ictères par incompatibilité système Rh
- . 8 ictères par incompatibilité O/A
- . 1 ictères par incompatibilité O/B
- . 3 ictères du prématuré
- . 2 ictères de cause indéterminée

Les prélèvements ont été réalisés soit au cours de vérification de taux élevés de bilirubinémie demandée au C.D.T.S., soit en début d'exsanguino-transfusion.

Sur ces échantillons ont été dosés parallèlement :

- . au C.D.T.S. - la bilirubinémie totale
 - la capacité de fixation résiduelle de la sérum-albumine pour la bilirubine par l'H.B.A.B.A.
 - les protides totaux
- . au laboratoire du Professeur ALAGILLE :
 - la bilirubine libre et non liée à l'albumine

Les résultats obtenus sont reportés sur le tableau n° VI

GROUPE I B

Comparaison des méthodes

Tableau VI

(- H.B.A.B.A.
(- Colonne

(Nom	Etio- logie	Date du pré- lèvement	Bilirubine totale mg	Bilirubine non liée à l'albumine	Capacité de fixation	Protides g/l
1 (BOU	Rh	H 74	14,2	+	75 %	
2 (DUP	Rh	H 61	17,6	+	61 %	54,8
3 (FEI	Rh	H 2	7,4	++	62 %	56
4 (RAB	Rh	H 66	17	+	75 %	
5 (BAY	Rh	naissance	5,7		99 %	
		H 12	16,4	+	88 %	
		H 20	16,8	++	54 %	
		H 37	23,2	++	43 %	
		H 42	20,8	+++	32 %	
		H 48	17,6	+	68 %	
		H 74	13,8	+	53 %	
6 (CHA	Rh	H 13	16,6	+	78 %	
		H 18	10,6	+	75 %	
7 (FAL	Rh	naissance	7	0	96 %	
8 (BIT	Rh	naissance	8	+	72 %	
9 (POS	Rh	naissance	1,8	0	99 %	
10 (ROS	Rh	naissance	1,6	0	99 %	
11 (DEG	Rh	H 61	15	+	83 %	46
12 (DES	Rh	H 11	20,8	+++	58 %	
13 (IJK	Rh	H 9	11,6	+	88 %	
14 (ESC	O/A	J VI	24,4	+	68 %	51,6
15 (AKH	O/A	H 75	25,4	+	78 %	57
16 (POU	O/A	H 52	19,6	+	67 %	53
17 (COH	O/A	J II	15	+	74 %	

Tableau VI (suite)

	(Nom)	(Étio- logie)	(Date du pré- lèvement)	(Bilirubine totale mg %)	(Bilirubine non liée à l'albumine)	(Capacité de fixation)	(Protéides g/l)
18	(VAR)	O/A	H 17	18,6	+	72 %	47,4
19	(SEB)	O/A	H 76	22,2	+	76 %	40
20	(FAV)	O/A	J III	21,2	+	70 %	
21	(BOU)	O/L	H 47	21,2	+	84 %	
22	(DRU)	O/B	H 56	21,4	+++	33 %	58
23	(N'GU)	préma-	J VI	24,2	++	66 %	43,8
		turé	J VII	23,8	+	71 %	46,5
24	(COU)	"	H 127	24,2	++	58 %	45,8
25	(PAC)	"	H 126	20	+	73 %	43
26	(LUI)	?	J IV	20,2	++	58 %	
27	(MAI)	?	H 104	19	++	61 %	42

GROUPE II

Nous avons recueilli les observations de 21 nouveaux-nés ictériques, hospitalisés dans le service du Professeur D. ALAGILLE.

Les dosages de bilirubinémie totale et éventuellement la mesure de la capacité résiduelle de fixation de l'albumine pour la bilirubine ont été effectués au C.D.T.S. suivant les techniques utilisées pour les groupes I A et I B.

Par contre, les mesures de la bilirubine non liée à l'albumine ont été effectuées au laboratoire attaché au service d'hospitalisation ce qui a permis dans la plupart des observations une évaluation théorique des risques d'encéphalopathie bilirubinique dans l'heure suivant le prélèvement.

Nous résumerons brièvement ces observations et nous schématiserons l'évolution de l'hyperbilirubinémie et la thérapeutique adoptée sous forme de tableaux.

Observation n° 1 : H... Patrice

né le 23.1.1969

Il s'agit d'un troisième enfant.

(Le premier enfant, né au terme de 6 mois 1/2, pesant 1600 g, est décédé à la 2ème heure. Le second, né au terme de 7 mois, pesant 1800 g, est décédé à la 24ème heure. Pour ces deux enfants, il n'est pas retrouvé de notion d'ictère néo-natal).

Grossesse normale. Accouchement à terme. PN : 3800 g. Cri immédiat.

Groupes sanguins - de la mère : A rhésus négatif

- de l'enfant : A rhésus positif

Le test de Coombs, fait sur le sang du cordon, se révèle fortement positif.

L'ictère est apparu vers la 10ème heure de vie.

Hospitalisé dans le service à la 12ème heure : coloration érythro-sique, ictère très discret, examen neurologique strictement normal. Pas de signes hémorragiques. Foie de volume normal.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J II	9,2		15,6
J III	17		
soir	18,4	+	15,75
/ Exsanguino-Transfusion /			
	11,2		
J IV	14	±	
soir	13,2		
J V	12	0	16

Conclusion

Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus

soupçonnée sur un test de Coombs fortement positif pratiqué sur le sang du cordon.

Exsanguino-transfusion effectuée au 3ème jour de la vie devant une bilirubinémie à 18,4 mg % et la présence de bilirubine non liée à l'albumine à l'examen sur colonne. Evolution simple. L'enfant quitte le service à l'âge de 10 jours en excellent état clinique.

Observation n° 2 : L... Josiane

née le 30.1.1969

Septième enfant. (Les six grossesses précédentes se sont déroulées sans incidents).

Au cours de cette dernière grossesse, il est décelé la présence d'agglutinines irrégulières anti-D.

Accouchement normal à terme. PN : 3 kg 900. Cri immédiat.

Groupes sanguins - de la mère : A rhésus négatif

- de l'enfant : A rhésus positif

Le test de Coombs est positif.

Ictère apparu vers la 36ème heure.

Hospitalisée dans le service à l'âge de 3 jours : ictère intense, pas de signes hémorragiques, foie discrètement augmenté de volume, examen neurologique normal.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
H 40	15,6	+	16
J III	21,6	++	13,6
	/ Perfusion d'albumine /		
	22,4	+	
	/ Exsanguino-Transfusion /		
J IV matin	14,8		
soir	13	0	
J V	10,2		13,2

Conclusion

Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus

Au 3ème jour de la vie, sur un taux de bilirubine totale de 21,6 mg %, une exsanguino-transfusion est décidée.

Entre temps, une perfusion d'albumine a été passée, qui a eu pour effet de diminuer la quantité de bilirubine non liée à l'albumine. Evolution favorable.

Observation n° 3 : A... Sylvie

née le 8.12.1968

Quatrième enfant. Fratrie : R.A.S.

Grossesse normale. Accouchement normal. PN : 2700 g.

Groupes sanguins - de la mère : A rhésus négatif
- de l'enfant : A rhésus positif

Un test de Coombs fait pendant la grossesse de la mère s'est révélé positif.

Ictère apparu vers la 12ème heure de vie.

Enfant hospitalisé dans le service à la 20ème heure : ictère généralisé intense, sans signe hémorragique. Examen neurologique normal. Pas d'hépatomégalie. Pôle de rate palpable.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
H 20	18,8	+	
	/ Perfusion d'albumine /		
H 24	20,8	±	13,30
	/ Exsanguino-Transfusion /		
J II matin	14,8	0	11,25
soir	17,2		
J III matin	17,6	±	11,20
	/ Exsanguino-Transfusion /		
ap.-midi	13,6		
soir	12,2		
J IV	11,8	0	

Conclusion

Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus

avec ictère précoce apparu à la 12ème heure, fonçant très rapidement et ayant nécessité deux exsanguino-transfusions à la 24ème heure puis, en raison de l'élévation rapide de la bilirubine, à la 49ème heure de vie. Evolution favorable.

Observation n° 4 : D... Sonia

né le 9.1.1969

Il s'agit d'un quatrième enfant. Les trois frères et soeur n'ont présenté aucun ictère néo-natal.

Au 7ème mois de la grossesse, une recherche d'agglutinines anti-D a été faite chez la mère et s'est révélée fortement positive.

Accouchement normal au terme de 8 mois et demi. PN : 2520 g. Cri immédiat.

Groupes sanguins - de la mère : 0 rhésus négatif

- de l'enfant : 0 rhésus positif

Test de Coombs direct très positif.

L'ictère est apparu dès la naissance.

Enfant transférée dans le service à la 6ème heure de vie : ictère franc, généralisé, sans signes hémorragiques. Hépatomégalie modérée. Examen neurologique satisfaisant.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
H 4	11,6	±	
		/ Perfusion d'albumine /	
H 10	15,6	±	
		/ Exsanguino-transfusion /	
H 16	12,2	+	
		/ Exsanguino-transfusion /	
J II	10,6 9,6	±	13,2
J III	9,4	0	11,6

Conclusion

Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus

avec ictère néo-natal immédiat ayant nécessité deux exsanguino transfusions à la 10ème puis à la 16ème heure de vie.

Evolution simple par la suite.

Observation n° 5 : D... Pascal

né le 24.2.1969

Il s'agit d'un deuxième enfant. (La première grossesse de la mère s'est terminée au terme de 5 mois et demi, par l'accouchement de jumeaux qui sont tous deux décédés : le premier à la naissance, le second quelques jours plus tard).

Durant la grossesse, la recherche d'agglutinines irrégulières chez la mère s'est avérée négative.

Accouchement normal. PN 3100 g. Cri immédiat.

Groupes sanguins - de la mère : A rhésus négatif
- de l'enfant : A rhésus positif

Le test de Coombs direct est positif.

Ictère apparu à la 7ème heure de vie.

Transfert dans le service à la 10ème heure ; ictère généralisé et modéré ; examen négatif.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
H 12	15,6	+	
H 18	16,4		
	/ Perfusion d'albumine /		
H 20	/ Exsanguino-transfusion /		
H 34	15	0	
H 36	15,6		
	/ Exsanguino-transfusion /		
J III	13,6	0	
J IV	9,4		

Conclusion

Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus

Exsanguiné à deux reprises, le première fois à la 20ème heure, la deuxième fois à la 36ème heure.

La première exsanguino-transfusion a été précédée d'une perfusion intra-veineuse d'albumine étant donné la présence de bilirubine non liée à l'albumine révélée à l'étude sur colonne.

Observation n° 6 : C... Fabienne

née le 24. 4. 1969

Il s'agit d'un quatrième enfant (mais 2ème enfant du couple actuel dont le premier a présenté un ictère banal à la 48ème heure).

Grossesse et accouchement normaux. PN : 3710 g.

Groupes sanguins - de la mère : 0 rhésus négatif
de l'enfant : 0 rhésus positif

Test de Coombs positif au 1/1000

L'ictère est apparu vers la 6ème heure de vie

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
H 19	22,8	+++	
	/ Perfusion d'albumine /		
H 26	25,8	+++	
	/ Exsanguino-transfusion /		
H 28	29	++	
	/ Exsanguino-transfusion /		
H 33	23,2	+	
	/ Exsanguino-transfusion /		
H 37	15	±	
H 46	18,6	/ Exsanguino-transfusion /	
H 52	14	0	12,5
H 62	14,8		
H 70	12,2		
J IV	12,4		
J V	9,2		

Conclusion / Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus /

Ictère d'apparition précoce (6ème heure) rapidement très intense, ayant nécessité 4 exsanguino-transfusions. Puis évolution simple, l'enfant quitte le service au bout de 10 jours en parfait état clinique.

THE UNITED STATES OF AMERICA
DEPARTMENT OF JUSTICE

IN SENATE
JANUARY 10, 1906

REPORT
OF THE
COMMISSIONER OF THE
LAND OFFICE
FOR THE YEAR
1905

WASHINGTON
GOVERNMENT PRINTING OFFICE
1906

Observation n° 7 : Q.... Axel

né le 31.3.1969

Il s'agit d'un premier enfant, premier jumeau.

Né au terme de 7 mois 1/2. PN 1770 g.

Accouchement sans incident. Premier cri immédiat. A.P.G.A.R. à 10 à la naissance.

Groupes sanguins - de la mère : A rhésus négatif
de l'enfant : A rhésus positif

Test de Coombs direct négatif.

Ictère apparu le 4ème jour.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J V	19,8		
J VI matin	20,3		
soir	20,8		
J VII	12,8	±	
	11,2		
J VIII	12	±	

Conclusion

Incompatibilité foeto-maternelle système rhésus

chez un prématuré, premier jumeau ; ictère apparu seulement au 4ème jour.

Les mesures sur colonne n'ayant pratiquement pas montré de bilirubine libre non liée à l'albumine, il n'a pas été pratiqué d'E. T.

Evolution immédiate favorable.

Observation n° 8 : Q... Gildas

né le 31.3.1969

Deuxième jumeau né au terme de 7 mois 1/2 d'une grossesse normale.

Accouchement : pose de forceps, placenta biamniotique monochoriel.
PN : 1020 g. Premier cri immédiat.

Groupes sanguins - de la mère : A rhésus négatif
de l'enfant : A rhésus positif

Coombs direct effectué à la naissance : négatif.

Ictère apparu le 4ème jour.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J V	20,6		
J VI matin	20		
soir	22		
J VII matin	19	±	
soir	16,8		
J VIII	16,4		

Conclusion

Ictère par incompatibilité foeto-maternelle système
rhésus

apparu au 4ème jour de vie chez un prématuré, 2ème jumeau.

Il n'a pas été jugé nécessaire de pratiquer une exsanguino-
transfusion.

Evolution simple.

Observation n° 9 : B... Jean-Louis

né le 15.10.1968

Premier enfant d'une mère diabétique.

Accouchement au terme de 7 mois 1/2. Forceps. Premier cri après deux minutes de réanimation (désobstruction, O₂).

A.P.G.A.R. : 4 à la naissance PN : 2110²g.
8 deux minutes après.

Groupes sanguins - de la mère : 0 rhésus positif
de l'enfant : A rhésus positif

Test de Murck-Andersen : faiblement positif.

Ictère apparu avant la 24ème heure.

Hospitalisé à l'âge de 3 jours : ictère très intense. Hypotonie globale. Foie et rate de volume normal.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J III soir	25	+	
	/ Exsanguino-transfusion /		
J IV matin	21,2	+	
	/ Exsanguino-transfusion /		
J V	17,2		11,8
J VI	16		

Conclusion

Prématuré

né de mère diabétique, qui a présenté

des troubles de la régulation glycémique vite résolus et un ictère
considéré comme hémolytique par incompatibilité O / A

Au troisième jour de vie, devant un taux de bilirubine totale à 25 mg % et la présence de bilirubine non liée à l'albumine, une exsanguino-transfusion a été pratiquée, suivie d'une seconde le lendemain pour bilirubinémie à 21 mg % et présence encore de bilirubine "toxique".

Puis évolution simple.

Observation n° 10 : D... Marie Christine

née le 20.9.1968

Dixième enfant (fratrie : RAS).

PN : 4350 g. Cri immédiat.

Groupes sanguins - de la mère : 0 rhésus positif
de l'enfant : A rhésus positif

Test de $Munx$ -Andersen très positif.

Ictère apparu au 2ème jour de la vie.

Hospitalisée dans le service à l'âge de 4 jours : ictère intense.
Examen neurologique normal. Foie et rate de volume normal.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %		Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J IV	matin	21,3	±	16,70
	soir	29,6		
/ Exsanguino-transfusion /				
J V	matin	20,8	0	15,75
	soir	20,2		
J VI		13,6		

Conclusion

Incompatibilité O / A

apparue au 2ème jour.

Exsanguino-transfusion au 4ème jour de vie pour une bilirubinémie à 29,6 mg % et la présence de traces de bilirubine libre non liée à l'albumine.

Il nous a été impossible de perfuser de l'albumine avant l'exsanguino-transfusion car celle-ci a été décidée et effectuée très rapidement.

Cet ictère a été remarquable : - par sa survenue chez un dixième enfant alors que rien d'anormal n'avait été noté dans la fratrie
- et par l'absence d'anémie contrastant avec l'intensité de l'hyperbilirubinémie chez un enfant à terme. L'évolution s'est faite simplement vers la guérison.

Observation n° 11 : R... Jean

né le 27.11.1968

Prématuré né au terme de 7 mois 1/2. PN : 1900 g.
Accouchement peu difficile : siège décomplété. Crie seulement après désobstruction et courte réanimation au masque. Légère cyanose des extrémités.

Groupes sanguins - de la mère : O rhésus positif
de l'enfant : A rhésus négatif

Coombes direct négatif
Munich - Andersen faiblement positif.

Ictère apparu à la 24ème heure.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J I	18,5		
J II	18,2		
J III matin	19,7		15
soir	22,6	+	
/ Perfusion d'albumine /			
J IV	20,2	±	
J V	23,6	±	12,7
/ Exsanguino-transfusion /			
J VI	14,4	0	

Conclusion !

Ictère vraisemblablement par

Incompatibilité A B O chez un prématuré

Au 3ème jour de vie, l'enfant n'a pas été exsanguiné malgré un taux de bilirubine à 22,6 mg % car considéré - par erreur - comme ayant alors 5 jours.

Malgré une perfusion d'albumine, a conservé des traces de bilirubine non liée à l'albumine.

Un exsanguino-transfusion a été pratiquée le 5ème jour. Evolution favorable.

Observation n° 12 : L... Isabelle

née le 25.4.1969

Première enfant.

Grossesse et accouchement normaux. Née à terme, pesant seulement 2300 g.

Groupes sanguins - de la mère : O rhésus positif
de l'enfant : A rhésus positif

Le Munk -Andersen est positif.

L'ictère est apparu entre la 24ème et la 36ème heure.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J III	matin 15,5		
	ap-mi. 16,2		
	soir 18,8	+	
J IV	matin 22,4	+	
	ap.mi.		16,4
/ Exsanguino-transfusion /			
J V	17,2	+	
J VI	16		

Conclusion

Il s'agit d'une

incompatibilité système A B O

Un taux de bilirubine à 22,4, au 4ème jour de vie, a entraîné la décision d'une exsanguino-transfusion en raison du petit poids de naissance, et de la présence de bilirubine non liée à l'albumine.

Evolution simple. L'enfant quitte le service au bout de 7 jours.

1. The first part of the document is a list of names and addresses. The names are written in a cursive hand, and the addresses are written in a more formal, printed hand. The list is organized into two columns, with names on the left and addresses on the right. The names are: John Doe, Jane Smith, and Robert Brown. The addresses are: 123 Main Street, New York, NY 10001; 456 Elm Street, New York, NY 10002; and 789 Oak Street, New York, NY 10003.

Name		Address	
John Doe	123 Main Street	New York, NY	10001
Jane Smith	456 Elm Street	New York, NY	10002
Robert Brown	789 Oak Street	New York, NY	10003

Observation n° 13 : D... Yannick

né le 2.7.1968

Il s'agit d'un septième enfant.

Les deux enfants précédents ont présenté un ictère néo-natal par incompatibilité.

- n° 5 1965, groupe B rhésus négatif : exsanguino-transfusion à la naissance
- n° 6 1967, groupe B rhésus positif : ictère néo-natal - pas d'exsanguino-transfusion.

Grossesse normale. Accouchement à terme. PN : 3520 g. Cri immédiat

Groupes sanguins - de la mère : O rhésus négatif

- de l'enfant : O rhésus positif

Test de Munz -Andersen : positif.

Ictère apparu au cours des premières 24 heures.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg%	Bilirubine non liée à l'albumine	Capacité de fixation en % (HBABA)	Protides g/l	Hémo globine g/l
(J II)	18,8				
(J III)	21,4	+++	33 %	58	13,6
/ Exsanguino-transfusion /					
(J IV)	16,6				

Conclusion

Incompatibilité dans le système A B O

Exsanguino-transfusion pour une bilirubinémie totale à 18,8 mg % au 2ème jour de vie, une capacité de fixation résiduelle à 33 % (donc reflétant une saturation complète de l'albumine) et la présence d'une quantité très importante de bilirubine libre non liée à l'albumine.

L'enfant quitte le service à l'âge de 18 jours en excellent état général.

Observation n° 14 : C... Hélène

née le 12.12.1968

Première enfant.

Grossesse normale durant laquelle la recherche d'agglutinines irrégulières est demeurée négative.

Accouchement normal. PN : 2850 g.

Groupes sanguins - de la mère : O rhésus négatif
de l'enfant : B rhésus positif

Test de Munk -Andersen : légèrement positif.

Ictère apparu au bout de 48 heures.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J V	22	±	
	/ Perfusion d'albumine /		
J VI	matin 19,6 soir 15,4	0	13,6
J VII	16,8		
J VIII	13,6		

Conclusion

Incompatibilité B O

Bilirubinémie élevée au 5ème jour de vie, à la limite de l'exsanguino-transfusion.

L'enfant n'a pas été exsanguiné mais l'étude sur colonne ayant montré la présence de traces de bilirubine libre non liée à l'albumine, on a perfusé - pour plus de sécurité - de l'albumine moyennant quoi, le lendemain, on ne retrouvait plus de bilirubine libre non liée à l'albumine.

L'évolution a été rapidement régressive.

Observation n° 15 : D... Eric

né le 25.10.1968

Deuxième enfant. Né au terme de 7 mois. PN : 1700 g.

Accouchement normal. Cri immédiat mais cyanose discrète ayant nécessité une oxygénothérapie durant 2 heures.

Groupes sanguins - de la mère : A positif)
de l'enfant : A positif) pas d'incompatibilité

Ictère apparu au 3ème jour de vie.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J IV	matin 18,6 soir 19,3	0	
J V	matin 22 soir 22,2	$\frac{+}{+}$	18,20
/ Exsanguino-transfusion /			
J VI	14,2	0	

Conclusion

Ictère simple du prématuré

Au 5ème jour de vie, l'exsanguino-transfusion a été décidée malgré l'âge
 (- sur l'évolution de la bilirubinémie (18,6 la veille)
 (- le faible poids de naissance
 (- la présence de bilirubine non liée à l'albumine

Evolution : régression rapide de l'ictère.

Observation n° 16 : R... Nadia

née la 28.12.1968

Il s'agit d'un septième enfant.

Né au terme de 7 mois et demi d'une grossesse apparemment normale. Accouchement normal - PN : 2000 g. Cri immédiat, mais à l'âge de 3 heures :

Cyanose du visage, geignement, hypothermie, hypotonie. APGAR à 6

Les groupes sanguins de la mère et de l'enfant sont identiques : A rhésus positif.

Le test de Coombs est négatif.

Ictère apparu au bout de 36 heures.

L'enfant est hospitalisée dans le service à l'âge de 3 jours : ictère généralisé ; début de déshydratation. Hypotonie. Foie et rate de volume normal. Conjonctivite purulente.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J VI	16,8	+	16,60
	/ Perfusion d'Albumine /		
J VII	15,6	±	
J VIII	14		
J IX	12,5	0	17,50

Conclusion

Prématuré

né à 7 mois et 1/2 chez lequel troubles

neurologiques et cyanose néo-natale ont fait craindre une infection néo-natale.

L'ictère néo-natal sans incompatibilité apparu au deuxième jour de vie a progressivement foncé jusqu'au 6ème jour de vie.

L'étude du sérum sur colonne montrait alors la présence de bilirubine non liée à l'albumine.

L'enfant a donc reçu une perfusion d'albumine ; évolution simple vers la régression de l'ictère.

Observation n° 17 : H... Azérine

né le 8.7.1968

Il s'agit d'un deuxième enfant d'une mère âgée de 23 ans.
(Le frère, bien portant, a présenté un ictère néo-natal, que l'on a suspecté être secondaire à la présence d'inhibiteur de la glucuro-conjugaison dans le lait maternel).

Né au terme de 7 mois et demi d'une grossesse apparemment normale.

PN : 2940 g. Cri immédiat. APGAR : 10.

Groupes sanguins de la mère et de l'enfant identiques : O.rhésus positif.

Ictère apparu au 3ème jour de la vie.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J IV	18,4		
J V matin	21,4	0	7,80
soir	22,4		
J VI matin	20,2		
soir	18,8		
J VII	15,8		
J IX	10		

Conclusion

Prématuré

de 7 mois et 1/2, aux antécédents

familiaux particuliers. Au terme de différentes investigations effectuées dans le service, tout milite en faveur d'un ictère un peu trop intense et trop prolongé mais en définitive banal chez un prématuré.

Sur l'absence de bilirubine libre non liée à l'albumine à l'étude sur colonne, on a écarté l'indication d'une exsanguino-transfusion.
Evolution très favorable.

Observation n° 18 : D... Isabelle

née le 21.3.1969

Il s'agit d'une quatrième enfant d'une mère âgée de 27 ans.

Née au terme de 7 mois (rupture spontanée de la poche des eaux 48 heures avant l'accouchement).

PN : 1770 g. Cri immédiat.

Groupes sanguins de l'enfant identique à celui de la mère (A rhésus positif).

L'ictère est apparu à la 36ème heure.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J III	13,9		
J V matin	20,5	±	
soir	16,2		
J VI	15,2	0	15

Conclusion

Ictère simple du prématuré

n'ayant pas nécessité d'exsanguino-transfusion.

Observation n° 19 : L... Alain

né le 6.12.1968

Il s'agit d'un quatrième enfant (fratrie : RAS).

Né au terme de 8 mois et demi. PN : 2100 g. Cri immédiat.

Groupes sanguins de la mère et de l'enfant identiques :
O rhésus positif.

Ictère apparu vers la 28ème heure de la vie.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine
J II matin	14,2	
soir	15,6	
J III	16,6	
J IV	17,6	0
J V	15,4	

Conclusion

Ictère néo-natal par immaturité hépatique probabl

chez un petit débile à terme.

La bilirubinémie totale a atteint le taux de 17,6 mg % au 4ème jour mais il n'a été retrouvé aucune trace de bilirubine libre non liée à l'albumine. N'a pas nécessité d'exsanguino-transfusion. Evolution très simple.

Observation n° 20 : W... Olivier

né le 3.2.1969

Prématuré né au terme de 7 mois et demi d'une grossesse apparemment normale. Accouchement à domicile sans incident. PN : 2070 g. Groupes sanguins de la mère et de l'enfant identiques : A rhésus positif.

Ictère apparu au bout de 48 heures.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J III	14		
J IV matin	24	+	12
/ Perfusion d'albumine /			
soir	18		
J V	15,4	±	
J VI	14,8	±	
J VII	11		

Conclusion

Ictère chez un débile presque à terme

(Cet enfant né au terme de 7 mois et demi présentait un âge maturationnel de 8 mois et demi).

Au quatrième jour de vie, taux élevé de bilirubine totale avec présence de bilirubine libre non liée à l'albumine.

L'enfant n'a pas été exsanguino-transfusé mais a reçu une perfusion intra-veineuse d'albumine et quelques heures plus tard on ne retrouvait plus que des traces de bilirubine non liée à l'albumine.

Evolution simple vers la régression de l'ictère.

Observation n° 21 : M... Delphine

née le 2.7.1968

3ème enfant - Fratrie : R.A.S. - Naissance : une semaine après terme semble-t-il.

Accouchement déclenché - 1er cri immédiat - APGAR à 10.

PN : 3180 g.

Groupes sanguins de la mère : AB rhésus positif

de l'enfant : A rhésus négatif

A trois reprises durant la grossesse ont été pratiquées des recherches d'agglutinines irrégulières. Elles se sont avérées négatives.

Coombs direct négatif.

Ictère apparu à la fin du 2ème jour.

L'enfant a été hospitalisé à l'âge de 3 jours : ictère généralisé avec reflets flamboyants. Foie et rate de volume normal. Examen neurologique normal.

Evolution

Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine	Hémoglobine g/l
J III	11,8		> 20
J VI	15		
J VII	18	0	17,80
J VIII	18,4		
J IX	14,8		
J X	11		10,80

Conclusion

Ictère assez intense associé à une polyglobulie chez un enfant probablement post-mature ; n'a pas nécessité d'exsanguino-transfusion. Evolution simple vers la régression de tous les signes.

L'enfant quitte le service au 11ème jour en parfait état.

V -

COMMENTAIRES

A - / GROUPE I A /

Comparaison entre les taux de bilirubinémie totale et l'existence ou non de bilirubine non liée à l'albumine.

Pour la grande majorité des 59 nouveaux-nés ictériques composant ce groupe, les échantillons de sang étudiés ont été prélevés en début d'exsanguino-transfusion.

Ceci peut sans doute expliquer le pourcentage important de réponses positives obtenues en utilisant la technique de filtration sur gel ; en effet sur 80 échantillons de sérum, nous avons pu noter 68 fois la présence de bilirubine libre non liée à l'albumine (soit environ 85 % des cas).

On ne peut tirer aucune conclusion pratique de cette étude "a posteriori" sinon que notre méthode montre la présence très fréquente de bilirubine non liée à l'albumine au moment où est entreprise l'exsanguino-transfusion.

Il faut remarquer qu'il n'y a aucun parallélisme rigoureux entre le taux de bilirubine totale et la quantité de bilirubine non liée à l'albumine.

Il s'avère intéressant de constater que :

- si pour 5 échantillons ne contenant pas de bilirubine non liée à l'albumine, il n'a pas été pratiqué d'exsanguino-transfusion,
- par contre, dans les 8 autres cas, les nouveaux-nés ont été exsanguino-transfusés, alors qu'a posteriori, l'étude de leur sérum par filtration sur gel le révélait exempt de bilirubine libre et non liée à l'albumine.

.../...

Cette constatation qui concerne 10 % des échantillons est reprise dans le tableau suivant :

N°	Nom	Etiologie	Age	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine
1	DUP..	Rh	H 36	15	0
2	DOM..	Rh	H 25	17,2	0
			H 63	20,2	0
3	STR..	Rh	H 25	9,4	0
4	FAL..	Rh	H 5	7,8	0
5	REN..	O/A	J V	23,6	0
6	DAG..	O/A	H 44	16,4	0
7	BEN..	?	J V	23,6	0

- Ces résultats ne sont pas étonnants chez DUP.. (1) et REN.. (5) puisqu'ils concernent des échantillons recueillis après une exsanguino-transfusion préalable dont ils confirment l'efficacité.

Les enfants STR.. (3) et FAL.. (4), malgré une incompatibilité Rh, présentaient un taux de bilirubine totale modérément élevé et l'absence de bilirubine non liée à l'albumine est plausible.

- En ce qui concerne les autres enfants, on peut remarquer qu'à taux égal de bilirubine totale, on se trouve en présence d'une quantité variable de bilirubine non liée à l'albumine ; ainsi :

- . DOM.. (2) - incompatibilité rhésus. PN : 2900 g
Au 2ème jour de vie, a un taux de bilirubine totale à 17,2 mg % mais pas de bilirubine non liée à l'albumine (0).

- . Alors que DUP.. (tableau I n° 8) : même étiologie -
PN voisin : 2940 g.

Présente au 2ème jour de vie un taux de bilirubine totale un peu inférieur (15 mg %) et cependant l'étude de son sérum sur colonne montre la présence de bilirubine libre et non liée à l'albumine (+).

De même, si nous comparons :

- . BEN.. (7) - ictère sans incompatibilité. PN : 2880 g
Au 5ème jour de vie, taux de bilirubine totale à 23,6 mg %, mais aucune trace de bilirubine libre non liée à l'albumine (C)

- . et TRE.. (Tableau V n° 10) - ictère sans incompatibilité. PN : 3010 g.
Au 5ème jour de vie, taux de bilirubine totale à 23,2 mg % et très importante quantité de bilirubine libre non liée à l'albumine (+++).

- DAG.. (6), présentant une incompatibilité O/A, PN 3000 g, a été exsanguino-transfusé à la 44ème heure de vie alors que son hyperbilirubinémie était relativement modérée (16,4 %), qu'il n'existait pas de bilirubine non liée à l'albumine, que l'examen clinique notamment neurologique était normal.

Mais il s'agissait d'un quatrième enfant dont les 3 soeurs avaient présenté :

- la 1ère, un ictère léger,
- la 2ème, un ictère modéré,
- la 3ème, un ictère nucléaire malgré 2 exsanguino-transfusions (elle devait décéder à 16 mois).

De ces résultats, il semble que l'on puisse tirer deux conclusions :

- compte-tenu du fait qu'ils concernent un groupe privilégié puisqu'il s'agit d'enfants qui presque tous et pour différentes raisons ont subi une ou plusieurs exsanguino-transfusions
 - compte-tenu également du fait que par là-même ce groupe a une composition artificielle différente de celle que l'on rencontre en pratique quotidienne d'un service de pédiatrie.
- 1° - Dans un peu moins seulement de 10 % des observations, la mesure de la bilirubine sur colonne ne confirme pas "a posteriori" le bien-fondé de l'exsanguino-transfusion réalisée au moment du prélèvement.
- 2° - Les critères classiques, cliniques ou biologiques, utilisés pour poser l'indication de l'exsanguino-transfusion trouvent une confirmation de leur validité neuf fois sur 10.

Ce pourcentage important a été une de nos surprises lors de cette étude, convaincus à tort que nous étions au début de ce travail que nombre d'exsanguino-transfusions réalisées en particulier chez des enfants indemnes de tout processus hémolytique ne représentaient qu'un geste d'extrême prudence.

Il reste que chez un enfant donné, la mesure de la bilirubine sur colonne semble permettre une meilleure approximation de la nécessité de l'exsanguino-transfusion ou de l'abstention du moins provisoire.

B - / GROUPE I B /

La capacité résiduelle de fixation de l'albumine pour la bilirubine a été évaluée en nous reportant à la courbe n° 2 établie d'après les récents travaux effectués au J.D.T.S. (62).

Cette étude est encore en cours actuellement et les résultats exprimés ici ne doivent être considérés que comme un ordre de grandeur susceptible de variations modérées en fonction de la nature de la solution d'albumine utilisée.

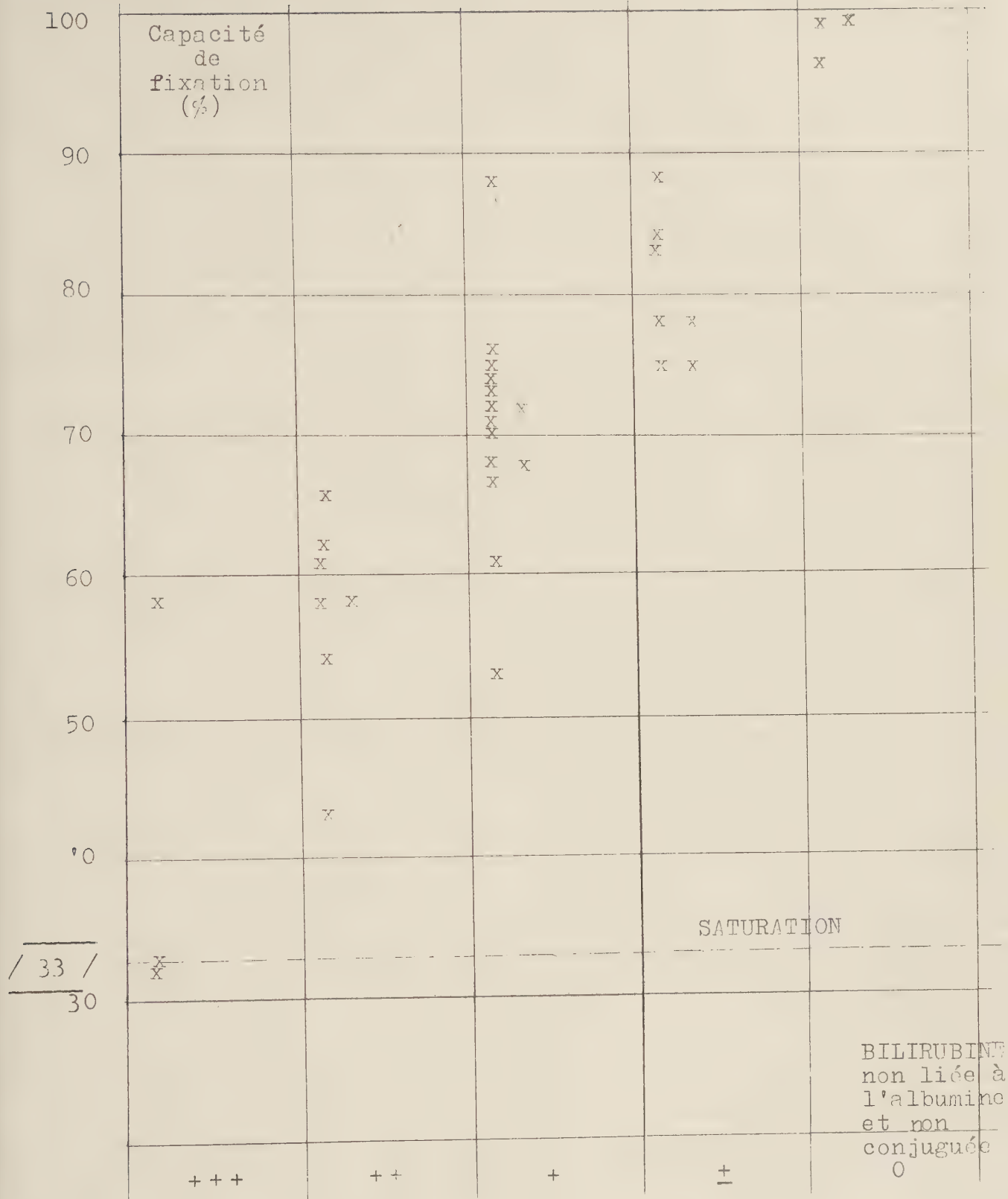
Les résultats obtenus par l'utilisation des 2 méthodes sont inscrits sur la figure 1 avec :

- en abscisse, l'évaluation de la bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine (système de cotation décrit plus haut, au chapitre III),
- en ordonnée, la capacité résiduelle de fixation de l'albumine pour la bilirubine (exprimée en pourcentage).

De ce diagramme, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Pour la majorité des échantillons de sérum étudiés il semble exister une bonne corrélation entre les deux méthodes :

- Ainsi, l'absence de bilirubine non liée à l'albumine et non conjuguée n'est constatée que lorsque la capacité résiduelle de fixation de l'albumine est élevée (supérieure à 90 %).
- A l'inverse, deux des trois échantillons contenant beaucoup de bilirubine non liée (+++) montrent une capacité résiduelle de fixation nulle (voisine de 33 %, admis comme coefficient de saturation).



Entre ces deux extrêmes, il semble exister un parallélisme satisfaisant entre les résultats obtenus avec les deux méthodes du moins dans le groupe d'échantillons étudiés.

La difficulté commence lorsque l'on cherche à savoir quelle est la méthode la plus satisfaisante sur le plan des incidences pratiques.

Si l'on admet que seule l'absence totale de bilirubine libre non liée à l'albumine permet d'écarter tout risque d'ictère nucléaire au moment du prélèvement et partant permet pour le moment l'abstention thérapeutique, la mesure de la capacité résiduelle de fixation telle qu'elle a été réalisée dans cette étude perd toute valeur puisque même avec une capacité entre 70 et 90 %, de nombreux échantillons montrent la présence de bilirubine toxique.

Si l'on utilise comme N.H. BRIGHT, la seule méthode optique pour apprécier ou non la présence de cette bilirubine toxique (correspondant dans notre étude à +++ et ++), on voit que seuls les échantillons ayant une capacité résiduelle de fixation supérieure à 70 % permettent l'abstention thérapeutique.

Le petit nombre d'enfants étudiés ici (35 échantillons) et surtout l'absence d'un recul évolutif de plusieurs années ne permettent guère une conclusion valable pour le moment :

1 - Faut-il expliquer la présence de bilirubine non liée à l'albumine coïncidant chez presque tous ces enfants avec une capacité résiduelle nullement négligeable par l'intervention d'autres facteurs, acidose, présence à un taux élevé de NEFA ou d'autres éléments compétitifs pour l'albumine ... ?

2 - Quel est le risque réel pour les noyaux gris centraux

.../...

d'une bilirubinémie libre non liée à l'albumine
inférieure à 5 mg %/oo ?

Faute de pouvoir répondre à ces deux questions, il nous paraît difficile pour le moment d'accorder la préférence à l'une ou l'autre méthode même en sachant l'intérêt théorique de la mesure sur colonne de la bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine.

GROUPE II

Un premier commentaire concerne, dans ce groupe, la rareté des cas où la filtration sur gel des sérums a conclu à l'absence de bilirubine non liée à l'albumine. S'il est vrai que ces nouveaux-nés avaient été hospitalisés pour ictère précoce ou intense, les échantillons de sérum étudiés ne correspondaient pas obligatoirement à des prélèvements de sang effectués en début d'une crossanguino-transfusion et ces résultats ont, pour nous, été assez inattendus.

Nous avons groupé les observations sous forme de tableaux.

1) Dans le tableau n° VII sont colligés les résultats des dosages sur colonne par rapport à la bilirubinémie totale en fonction de l'âge et de l'étiologie de l'hyperbilirubinémie.

- Comme nous l'avions déjà constaté pour les Groupes I A et I B, il n'existe pas de parallélisme rigoureux entre le taux de bilirubine totale et la présence ou l'absence de bilirubine non liée à l'albumine.

Ainsi, dans les observations n° 11 et n° 13 (présentant toutes deux une incompatibilité) : à taux de bilirubine totale voisin et à âge égal.

- Si l'on tient compte de l'âge de l'enfant au moment du prélèvement, on peut noter la présence de bilirubine non liée à l'albumine dès la 4ème heure de vie dans l'observation n° 4 (concernant une incompatibilité Rh) et ce pour un taux de bilirubine atteignant 11,6 %. Cette remarque est également valable pour les observations n° 5 (H 12), n° 6 (H 19) et n° 3 (H 20).

. A l'inverse, dans les observations n° 7 et 8, c'est assez tardivement - puisqu'au 7ème jour de vie - qu'on a retrouvé la présence de bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine.

.../...

GROUPE IITableau n° VII

Obs n°	Age	Etiologie	Bilirubine totale mg %	Bilirubine non liée à l'albumine
1	J III	Rh	18,4	+
2	J III	Rh	21,6	++
3	H 20	Rh	18,8	+
4	H 4	Rh	11,6	±
5	H 12	Rh	15,6	+
6	H 19	Rh	22,8	+++
7	J VII	Rh	12,8	±
8	J VII	Rh	19	±
9	J III	O/A	20,2	+
10	J	O/A	20,6	±
11	J III	O/A	22,6	+
12	J IV	O/A	22,4	+
13	J III	O/B	21,4	+++
14	J V	O/B	22	±
15	J V ^{1/2}	prématuré	22,2	+
16	J VI	prématuré	16,8	+
17	J V	prématuré	21,4	0
18	J VI	prématuré	20,5	±
19	J IV	immaturité?	17,6	0
20	J IV	débile à terme	24	+
21	J VII	?	18	0

- Les trois observations (n° 17, 18, 21) où la filtration des sérums sur colonne de gel n'a retrouvé aucune trace de bilirubine libre, non liée à l'albumine, concernant des ictères sans incompatibilité.
- . Dans l'observation n° 17 concernant un prématuré de 7 mois 1/2, la seule considération du taux de bilirubine totale (21,4 puis 22,4 mg % en cours du 5ème jour de vie) aurait pu inciter à pratiquer une exsanguino-transfusion ; compte-tenu des résultats sur colonne aucune thérapeutique n'a été entreprise et l'évolution a été très simple.

2) Le tableau n° VIII réunit les résultats obtenus avant et après exsanguino-transfusion.

Obs n°	Étiologie	Avant Exsanguino- Transfusion	Avant Exsanguino-transfusion			
			1ère	2ème	3ème	4ème
1	Rh	+	+ puis 0	0		
2	Rh	+	0			
3	Rh	+	0 puis +	0		
4	Rh	+	+	+ puis 0		
5	Rh	+	0	0		
6	Rh	+++	++	+	+	0
9	O/A	+	+	?		
10	O/A	+	0			
15	prématuré	+	0			

Les dosages successifs de bilirubine non liée à l'albumine démontrent l'efficacité de l'exsanguino-transfusion en tant que geste thérapeutique.

Dans 2/3 des cas, l'exsanguino-transfusion a suffi à diminuer totalement la bilirubine toxique non liée à l'albumine.

Au début de notre étude, nous espérions que grâce à cette récente technique, les indications de l'exsanguino-transfusion allaient peut-être voir leur fréquence diminuer ; l'observation n° 5 pourrait en être un exemple (bien-fondé de la 2ème exsanguino-transfusion ?).

En fait, il faut reconnaître que de tels cas sont rares.

3) Tableau n° IX

Comparaison des dosages de bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine effectués avant et après perfusion d'albumine.

Obs N°	Étiologie	Avant perfusion d'albumine	Après perfusion d'albumine
14	O/B	±	0
16	prématuré	+	±
20	débile à terme	+	±

Il s'agit d'enfants qui n'ont pas été exsanguinés.

Le nombre de cas semblables est trop peu important pour juger de l'efficacité de la seule perfusion d'albumine.

Ces 3 observations semblent bien confirmer l'idée théorique que l'enrichissement de l'albumine sérique par un apport d'albumine humaine puisse - en augmentant le nombre de "sites de fixation" disponibles - renforcer les liaisons avec la bilirubine et augmenter le pouvoir protecteur.

Aux doses utilisées (0,30 g par kg de poids corporel) cette thérapeutique ne semble pas radicalement efficace puisqu'entraînant une diminution de la quantité de bilirubine libre non liée à l'albumine mais pas sa disparition.

Nous avons envisagé l'éventualité d'une amélioration des résultats obtenus par l'augmentation - dans la mesure du possible - de la quantité d'albumine perfusée.

4) Tableau n° X

Obs	Etiologie	Avant perfusion d'albumine	Après perfusion d'albumine	Après l'exsanguino transfusion suivant la perfusion d'albumine			
				1ère	2ème	3ème	4ème
2	Rh	++	+	0			
11	O/A	+	+	0			
3	Rh	+	+	0 puis	+	0	
4	Rh	+	+	+	+	0	
5	Rh	+	?	0	0		
6	Rh	+++	+++	++	+	+	0

Il s'agit d'enfants pour lesquels le délai écoulé entre l'obtention des résultats positifs de la filtration du sérum sur colonne et l'arrivée des Médecins exsanguino-transfuseurs, a permis d'installer pendant une heure une perfusion d'albumine.

Ce tableau confirme - si besoin était - l'efficacité de l'exsanguino-transfusion.

Quoique dans deux cas ce geste thérapeutique ait nécessité d'être renouvelé, la perfusion d'albumine semble avoir pu permettre une évolution plus rapidement résolutive et peut-être, de ce fait, exclure la répétition des exsanguino-transfusions. Mais il serait bien difficile de l'affirmer étant donné le trop petit nombre d'échantillons étudiés.

Au terme de ce travail groupant l'étude de 170 échantillons de sérum provenant de 107 nouveau-nés ictériques, il apparaît que :

- La méthode de dosage de la bilirubine libre et non liée à l'albumine par filtration sur colonne de gel Sephadex représente une méthode de réalisation technique aisée et surtout rapide.

.../...

En effet dans les cas où la bilirubine non liée à l'albumine est présente en quantité notable dans le sérum étudié, on obtient en une vingtaine de minutes ~~ou moins~~ une coloration jaunâtre significative au sommet de la colonne ; devant cet indice colorimétrique visible à l'oeil nu, on peut - sans avoir recours à la spectrophotométrie - être amené à effectuer une exsanguino-transfusion dans les meilleurs délais.

La technique est plus longue (environ 60 minutes) lorsque la quantité de bilirubine "toxique" est moins importante et ne peut être décelée que par la lecture au spectrophotomètre ; mais il faut bien reconnaître que dans ces cas assez "limités" l'indication de l'exsanguino-transfusion perd un peu de son caractère d'urgence.

- De plus, elle n'exige qu'une quantité minime de sérum, permettant la répétition des mesures et la surveillance régulière de l'évolution de l'hyperbilirubinémie toxique.
- Elle paraît apporter des renseignements fidèles concordant avec l'état clinique et dans l'ensemble avec les résultats donnés par la méthode de détermination par l'H.B.A.B.A. de la capacité résiduelle de fixation de l'albumine.
- Elle semble représenter la méthode la plus directe de l'évaluation de la bilirubine considérée comme toxique, particulièrement précieuse dans les cas où -malgré un taux de bilirubine totale relativement bas et risquant d'être considéré comme inoffensif- elle révèle la présence en quantité suffisante pour être nocive, de bilirubine libre non liée à l'albumine.

Une excellente illustration nous est fournie par :

LES RESULTATS DE LA LITTERATURE

L'équipe Tchecoslovaque composée de V. JIRSOVA et de ses collaborateurs (41), utilisant la technique de filtration sur gel Sephadex 25, a étudié les sérums de 17 nouveau-nés ictériques :

- Chez 12 de ces enfants (6 ictères néo-nataux, 6 ictères hémolytiques non compliqués) la bilirubine et les protéines sériques sont passées ensemble rapidement à travers la colonne reflétant une solide liaison protéine-bilirubine.
- Chez 5 enfants, ayant une hyperbilirubinémie élevée ou très rapidement croissante, ou encore en état clinique médiocre, les auteurs ont pu noter la présence de bilirubine non liée à l'albumine demeurant au sommet de la colonne lui conférant une coloration jaunâtre.
- Un cas particulièrement intéressant concerne un enfant né de mère diabétique, présentant une microcéphalie et une détresse respiratoire et dont les taux de bilirubine n'ont jamais dépassé 16 - 17 mg %. Il n'a pas été pratiqué d'exsanguino-transfusion. Cependant les dosages sur colonne avaient montré la présence de bilirubine non liée à l'albumine le 4ème jour.

Un ictère nucléaire s'est développé le 5ème jour.

En conclusion : ces auteurs proposent la possibilité d'utiliser la technique de filtration sur gel Sephadex des sérums de nouveau-nés ictériques comme une méthode spécifique d'évaluation du risque d'ictère nucléaire et une porte ouverte à l'obtention de critères plus précis d'exsanguino-transfusion.

Ils estiment que :

- lorsque toute la bilirubine passe rapidement à travers la colonne, le pronostic est favorable.
- Par contre, lorsque la colonne reste jaune (reflet de l'existence de bilirubine libre et non liée à l'albumine) il serait souhaitable de pratiquer une exsanguino-transfusion, ce, même si les taux de bilirubine sérique n'indiquent pas la nécessité d'un tel geste thérapeutique.

VI -

CONCLUSIONS

Les connaissances actuelles sur :

- le métabolisme de la bilirubine,
- les conditions de survenue de l'encéphalopathie bilirubinémique,
- la toxicité pour le parenchyme cérébral de la seule fraction de bilirubine libre non liée à l'albumine,
- et le rôle "protecteur" de la liaison plasmatique de la bilirubine libre avec la sérum-albumine,

permettent de mieux pénétrer les mécanismes de l'hyperbilirubinémie néo-natale et de l'ictère nucléaire.

Cependant, l'appréciation exacte du risque encouru dans de telles circonstances, et partant, l'élaboration d'une doctrine de surveillance et de prévention susceptible d'être généralisée au plus grand nombre, reste difficile et conduit à de nombreuses controverses.

Le but de ce travail est d'exposer les résultats obtenus grâce à une méthode récente permettant de doser la bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine par filtration sur colonne de gel Sephadex 25.

Après un exposé de la technique utilisée, les résultats sont réunis en trois groupes homogènes, compte-tenu des conditions de prélèvement et de transport, des échantillons, et comparés à ceux obtenus grâce aux techniques plus classiques.

- A - Un premier groupe comprend 80 sérums provenant de 59 nouveaux-nés. Les résultats obtenus par la méthode de filtration sur colonne sont comparés au taux de bilirubine totale (dosée par les méthodes classiques au C.D.T.S.).

B - Un deuxième groupe rassemble 35 sérums de 27 nouveaux-nés chez lesquels, en outre, une mesure de la capacité résiduelle de fixation de la sérum-albumine pour la bilirubine, par l'H.B.A.B.A. a été réalisée (au C.D.T.S.).

C - Un troisième groupe enfin, concerne 21 nouveaux-nés hospitalisés dans le service du Professeur Agrégé D. ALAGILLE, pour lesquels les dosages sur colonne ont pu être pratiqués dans les meilleurs délais. Dans ce groupe les résultats ont conduit à diverses propositions thérapeutiques qui sont analysées.

L'ensemble de ces premiers résultats laisse espérer que la méthode utilisée dans ce travail constitue un progrès certain puisqu'elle mesure la fraction de bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine, et permet de poser rapidement l'indication thérapeutique ou l'abstention. Toutefois, le bien-fondé de ces premières conclusions doit trouver une confirmation dans l'étude d'un plus grand nombre d'observations et dans une surveillance prolongée de chacune d'entre elles.

Vu, le Président de Thèse

Vu, le Doyen de la Faculté
de Médecine

Monsieur le Professeur

A. MONSAINGEON

Monsieur le Professeur

G. BROUET

Vu et permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

Monsieur J. ROCHE

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ABELSON N.M., BOGGS T.R.
 Plasma pigments in erythroblastosis fetalis. I
 Spectrophotometric absorption patterns.
 PEDIATRICS 1956, 17, 452.

- 2 - ALAGILLE D.
 Les anomalies congénitales du métabolisme de la
 Bilirubine.
 REV. FRANC. ET. CLIN. BIOL. 1965, 4, X, 355-361.

- 3 - ARIAS I.M.
 The chemical bases of kernicterus.
 ADVANCES CLIN. CHEM. 1960, 3, 35.

- 4 - ARIAS I.M.
 Recent advances in the metabolism of bilirubin and
 clinical implications.
 PEDIAT. CLIN. N. AMER. 1960, 44, 607.

- 5 - ARIAS I.M., JOHNSON L., WOLFSON S.
 Biliary excretion of injected conjugated and uncon-
 jugated bilirubin by normal and Gunn rats.
 AMER. J. PHYSIO. 1961, 200, 1091.

- 6 - ARIAS I.M., LONDON I.M.
 Bilirubin glucuronide formation. In vitro demons-
 tration of deficit in Gilbert's disease.
 SCIENCE 1957, 126, 563.

- 7 - BARLOW C.F.
 Clinical aspects of the blood-brain barrier.
 ANN. REV. MED. 1964, 15, 187.

- 8 - BERENDSOHN S., LOWMAN J., SUNDBERG D., WATSON C.J.
 Idiopathic dyserythropoietic jaundice.
 BLOOD 1964, 24, 1.

- 9 - BERNARD R., GARRIGUES A., ROUBY D.
 La barrière hémato-cérébrale et sa perméabilité aux
 corticoïdes.
 ANN. PEDIAT. 1966, 42, 2109/505.

- 10 - BERSTEIN L.H., BEN TZZUR J., GARTNER L., ARIAS I.M.
 Hepatic intracellular distribution of tritium labe-
 led unconjugated and conjugated bilirubin in normal
 and Gunn rats.
 J. CLIN. INVEST. 1966, 45, 1194.

.../...

11 - BLONDHEIM S.H.

The relationship between the albumin concentration of serum and its dyebinding capacity.
J. LAB. CLIN. MED. 1955, 45, 740.

12 - BOHUON C., LEBOTUF M.

Etude critique d'une méthode de dosage de l'albumine sérique par combinaison albumine-colorant.
ANN. BIOL. CLIN. (Paris) 1964, 22, 133.

13 - BOISSIERE H., CAGNAT R.

Les ictères par hyperbilirubinémie indirecte du nouveau-né.
MED. INFANT. (Paris), 1966, 73, 319.

14 - BORTEAU T., DAVID G.

Résultats immédiats de l'exsanguino-transfusion dans le traitement de la maladie hémolytique du nouveau-né.
SEM. HOP. PARIS, 1958, 34, 386.

15 - BOREAU T., MARTIN L., LARROCHE J.C., SAUTRIOT G.

Etude clinique de quelques cas d'ictère nucléaire du nouveau-né par maladie hémolytique à évolution rapidement mortelle. Essai de classification.
GYNEC. OBST. 1964, 63, 289.

16 - BOREAU T., MENSCH-DECHENE J., ROUX-DOUHERET E.

Etude clinique de 34 cas d'ictère nucléaire par maladie hémolytique et de leur évolution.
ARCH. FRANC. PEDIAT. 1964, 21, 43.

17 - BOURRILLON R.

Isolement et propriétés du complexe bilirubine-sérum albumine du sérum.
BULL. SOC. CLIN. BIOL. (Paris), 1957, 39, 385.

18 - BOWEN W.R., PORTER E., WATERS W.J.

The protective action of albumin in bilirubin toxicity in newborn puppies.
J. DIS. CHILD. 1959, 98, 568.

19 - BRIGHT N.H.

Free bilirubin in neonatal hyperbilirubinemia detection by gel filtration.
ANN. PED. SOC. (Atlantic City), 1967, p. 26.

19 bis - BRIGHT N.H. : Communication personnelle.

20 - CARTER R.E., MAC GANN R.J.

The standardization of the Van den Bergh reaction for serum bilirubin.
CLIN. CHEM. 1959, 5, 106.

- 21 - COLE P.G., LATHE G.H., BILLING B.H.
Separation of bile pigments of serum, bile and urine.
BIOCHEM. J. 1954, 57, 514.
- 22 - CLAIREAUX A.F., COLE C., LATHE G.
Icterus of the brain in the newborn.
LANCET 1953, 2, 1226.
- 23 - CORNER B.D.
Hyperbilirubinemia in premature infants treated by exchange transfusion.
PROC. ROY. SOC. MED. 1958, 51, 1019.
- 24 - COWGER M.L.
The effect of albumin in reversing bilirubin toxicity in tissue culture.
AMER. J. DIS. CHILD. 1955, 90, 520.
- 25 - COWGER M.L., IGOR P., LABBE R.F.
The mechanism of bilirubin toxicity studied with purified respiratory enzymes and tissue culture system.
BIOCHEMISTRY (Wash.) 1965, 4, 2763.
- 26 - CROSSE V.M., WALLIS P.G., WALSH A.M.
Replacement transfusion as a mean of preventing Kernicterus of prematurity.
ARCH. DIS. CHILD. 1958, 33, 403.
- 27 - DAVID G., BORTEAU T., INGRAND F., MAIGRET P.
L'ictère de la maladie hémolytique du nouveau-né.
REV. INT. HEPAT. 1960, 10, 37.
- 28 - DAY R.L.
Inhibition of brain respiration in vitro by bilirubin. Reversal of inhibition by various means.
PROC. SOC. EXP. BIOL. MED., 1954, 85, 261.
- 29 - DIAMOND I.
Kernicterus : revised concepts of pathogenesis and management.
PEDIATRICS 1966, 38, 539.
- 30 - DIAMOND I., SCHMID R.
Bilirubin encephalopathy. Experimental models in newborn and adult animals.
PROC. AMER. SOC. CLIN. INVEST. (Atlantic-City - New Jers.) 1965, 3.

- 31 - DIAMOND I., SCHMID R.
Experimental bilirubin encephalopathy. The mode of entry bilirubin-C 14 into the central nervous system.
J. CLIN. INVEST. 1966, 45, 678.
- 32 - ERNSTER L., UETLIN L., ZETTERSTROM R.
Experimental studies on the pathogenesis of Kernicterus.
PEDIATRICS 1957, 20 647.
- 33 - FELBO M., HAUGE KRISTENSEN K., MTLCHIOR J.C.
Hemoglobin, Bilirubin and serum protein in newborn infants.
ANN. PEDIAT. MUNN. 1966, 12, 160-166.
- 34 - GAJDOS A.
Données récentes sur la biosynthèse normale et pathologique des pigments biliaires.
(I) - PRESSE MED. 1966, 74, 2049.
(II) - PRESSE MED. 1966, 74, 2155.
- 35 - GOLDFICHER S., ARIAS I.M., ESTNER T., NOVIKOFF A.B.
Cytochemical and electromicroscopic studies of rat liver with reduced capacity to transport conjugated bilirubin.
J. EXP. MED. 1962, 115, 467.
- 36 - HARRIS R.C., LUCY J.F., MAC LEAN J.R.
Kernicterus in premature infants associated with low concentrations of bilirubin in the plasma.
AMER. J. DIS. CHILD. 1964, 108, 122.
- 37 - HESS A.
Blood brain barrier and ground substance of central nervous system.
ARCH. NEUROL. PSYCH. (Chicago) 1955, 73, 380.
- 38 - ISRAELS L.G., SKANDENBERG J., ZUYDA H., ZINGG W., ZIPURSKY A.
Study and early labelled fraction of bile pigment effect of alternating erythropoiesis on incorporation of 2 C 14 glycine into haem and bilirubin.
BRIT. J. HAEMATOL., 1963, 9, 50.
- 39 - ISSELBACHER K.J., MAC CARTHY M.A.
Studies on bilirubin.
J. CLIN. INVEST. 1959, 38, 645.
- 40 - JENDRASSIK K.L., GROF. P.
Vereinfachte photometrische methode zur bestimmung des blutbilirubins.
BIOCHEM. Z., 1938, 297, 8.

- 41 - JIRSOVA V., JIRSA M., HERINGOVA A., KOLDOVSKY O.,
WEIRICHOVA J.

The use and possible diagnostic significance of
Sephadex Gel filtration of serum from icteric
newborn.

BIOL. NEONAT. 1967, 11, 204-208.

- 42 - JOHNSON L., BOGGS T.P.

Comment on : Kernicterus : Revised concepts of
pathogenesis and management.

PEDIATRICS 1966, 38, 539.

- 43 - JOHNSON L., GARCIA M.L., FIGUEROA A.E., SARRIENTO F.

Kernicterus in rats lacking glucuronyl transferase.
II - Factors which affect bilirubin concentration
and frequency of Kernicterus.

AM. J. DIS. CHILD. 1961, 101, 322.

- 44 - LESTER R., BURMAN R.E., LUCEY J.F.

Transfer of bilirubin C 14 across monkey placenta.
PEDIATRICS 1963, 32, 416.

- 45-- LESTER R., OSTROW J.D., SCHWID R.

Enterohepatic circulation of bilirubin.

NATURE 1961, 192, 372.

- 46 - LUCEY J.F., VALDES T., DOMIADIS S.A.

Serum-albumine reserve P.S.P. Dye binding capacity
in infants with Kernicterus.

PEDIATRICS 1967, 39, 876.

- 47 - MALLOY H.T., EVELYN K.A.

The determination of bilirubin with the photoelectric
colorimeter.

J. BIOL. CHEM. 1937, 119, 481.

- 48 - MARTIN N.H.

Preparation and properties of serum and plasma
proteins. XXI - Interactions with bilirubin.

J. AMER. CHEM. SOC. 1949, 71, 1230.

- 49 - MELICHAR V., POLACEK K., NOVAK M.

The Relationship between bilirubin concentration
and the level of non esterified fatty acids in the
blood of the newborn infants.

BIOL. NEONAT. 1962, 4, 94.

- 50 - MOLLISON P.L., CUTBUSH M.

Hemolytic disease of the newborn. Criteria of
severity.

BRIT. MED. J. 1949, 1, 123.

- 51 - MORALES-MALVA J.A., SAPAG-HAGAR M., ISRAEL-BUWICK S.

A preparatory paper electrophoresis method for the study of the transporting capacity of serum proteins.

CLIN. CHEM. ACTA. 1966, 14, 667.

- 52 - NAKAJIMA H., TAKEMURA T., NAKAJIMA S., YAMAOKA K.

Studies on heme- α -methenyloxygenase.

I - Enzymatic conversion of pyridin hemichromogen and hemoglobin haptoglobin into possible precursor of bilirubin.

J. BIOL. CHEM. 1963, 238, 3784.

II- Isolation and characterisation of final reaction product: possible precursor of bilirubin.

J. BIOL. CHEM. 1963, 238, 3797.

- 53 - NATZSCHKA J.C., ODELL G.B.

The influence of albumin on the distribution and excretion of bilirubin in jaundiced rats.

PEDIATRICS 1966, 37, 51.

- 54 - NOVAK M., POLACEK K., MELICHAR V.

Competition between bilirubin and non esterified fatty acids for binding bilirubin.

BIOL. NEONAT. 1962, 4, 310.

- 55 - ODELL G.B.

Studies in Kernicterus. I - The protein binding of bilirubin.

J. CLIN. INVEST. 1959, 38, 823.

- 56 - ODELL G.B.

The dissociation of bilirubin from albumin and its clinical implications.

J. PEDIAT. 1959, 55, 268.

- 57 - ODELL G.B.

The influence of pH on the distribution of bilirubin between albumin and mitochondria.

PROC. SOC. PAED. RES. 1964, Seattle, Wash.

- 58 - ODELL G.B., COHEN S.

The effect of pH on the protein binding of bilirubin.

AMER. J. DIS. CHILD. 1960, 100, 525.

- 59 - ODELL G.B., COHEN S.N., GORDON E.H.

Administration of albumin in the management of hyperbilirubinemia by exchange transfusions.

PEDIATRICS 1962, 30, 613.

- 60 - OSTROW J.D., SCHMID R.
The protein binding of C 14 bilirubin in human
and mesure serum.
J. CLIN. INVEST. 1963, 42, 1286.
- 61 - OSTROW J.D., JANDEL J.H., SCHMID R.
Formations of bilirubin from hemoglobin in vivo.
J. CLIN. INVEST. 1962, 41, 1628.
- 62 - PLOUSSARD J.P.
Capacité résiduelle de fixation de la sérum
albumine pour la bilirubine. Intérêt de son
étude dans l'ictère du nouveau-né.
Thèse 1968 Paris.
- 63 - PORTER R.G., WATERS W.J.
A rapid micromethod for mesuring the reserve
albumin binding capacity in serum from newborn
infants with hyperbilirubinemia.
J. LAB. CLIN. MED. 1966, 67, 660.
- 64 - ROBINSON S.H., OWEN C.H., FLOCKE J., SCHMID R.
Bilirubin formation in the liver from non hemo-
globin sources.
BLOOD 1965 26, 823.
- 65 - RUSTEIN D.D., INGENITO E.F., REYNOLDS W.F.
The determination of albumin in human blood
plasma and serum. A method based on the inter-
action of albumin with amonic dye 2 (4 hydroxy-
benzeneazo) benzoic acid.
J. CLIN. INVEST. 1957, 33n 211.
- 66 - SCHENCKER S., MACCANDLESS D.W., ZOLLMAN P.W.
Studies of cellular toxicity of unconjugated
bilirubin in Kernicterus brain.
J. CLIN. INVEST. 1966, 45, 1213.
- 67 - SCHMID R., DIAMOND I., HAMMANER L., GUNDERSENC B.
Interaction of bilirubin with albumin.
NATURE (London) 1965, 206, 1041,
- 68 - SINGLETON J.W., LESTER L.
Bilirubin reductase in guinea pig liver.
J. BIOL. CHEM. 1965, 240, 4780.
- 69 - VAN PRAAGH R.
Diagnosis Kernicterus in the neonatal period.
PEDIATRICS 1961, 28, 870.

70 - WATERS W.J.

The reserve albumin-binding capacity as a criterion for exchange transfusion.
J. PEDIAT. 1967, 70, 185.

71 - WATERS W.J., BOWEN W.

Bilirubin encephalopathy : studies related to cellular respiration.
AMT. J. DIS. CHILD. 1955, 90, 603.

72 - WATERS W.J., PORTER E.G.

Dye binding capacity of serum albumin in hemolytic disease of the newborn.
AMT. J. DIS. CHILD. 1961, 102, 807.

73 - WATERS W.J., PORTER E.G.

Indications for exchange transfusion based upon the role of albumin in the treatment of hemolytic of the newborn.
PEDIATRICS, 1964, 33, 739.

74 - YAMAMOTO T., SKANDENBERG J., ZIPURSKY A., ISRAELS L.G.

The easily appearing bilirubin evidence for two components.
J. CLIN. INVEST. 1965, 44, 3.

75 - ZETTERSTROM R., ERNSTER L.

Bilirubin anuncouplar of oxydative phosphorylation in isolated mitochondria.
NATURE (London) 1956, 178, 1335.

